Utjecaj brzine dotoka uzorka i protoka medija za sušenje na svojstva alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem

Nižić, Laura

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:651062

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb







Laura Nižić

Utjecaj brzine dotoka uzorka i protoka medija za sušenje na svojstva alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad prijavljen je na kolegiju Novi terapijski sustavi Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Zavodu za farmaceutsku tehnologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc Anite Hafner.

Zahvaljujem mentorici, izv. prof. dr. sc. Aniti Hafner na strpljenju, prenesenom znanju, uloženom trudu, smirenom i pedagoškom pristupu, poticanju te savjetima koji su pridonijeli izradi ovog diplomskog rada. Srdačno zahvaljujem na savjetima i uloženom vremenu i asistentici Sabini Keser bez čije bi pomoći praktični dio ovog rada bilo neusporedivo teže napraviti. Puno hvala Marieti Duvnjak Romić na provedbi termogravimetrijske analize i pomoći oko statističke analize rezultata te Matiji Gretiću na provedbi pretražne elektronske mikroskopije.

Neizmjerno hvala mojim roditeljima na svemu što su mi omogućili i na stalnoj podršci u svim aspektima života.

Hvala Josipu što je uvijek uz mene, i koji kao da je i sam pisao ovaj rad.

Hvala mojim dragim prijateljicama i prijateljima, onima koje poznajem godinama, ali i kolegama s fakulteta zbog kojih su cjelodnevni boravci na vježbama, predavanjima i seminarima bili ugodni i zabavni.

Sadržaj

1. UVOD ... 1

1.1.Sušenje raspršivanjem ... 2

1.2.Primjena sušenja raspršivanjem u istraživanju i razvoju lijekova ... 4

1.2.1.Priprava prašaka ... 4

1.2.2.Poboljšanje farmakokinetičkih svojstava lijekova ... 4

1.2.3.Oblikovanje bioloških lijekova ... 5

1.2.4.Prašci inhalata ... 6

1.2.5.Sušenje raspršivanjem mikroorganizama i biljnih materijala ... 7

1.3.Svojstva (mikro)čestica dobivenih sušenjem raspršivanjem ... 8

1.4. Ostatna vlaga u osušenom produktu ... 10

1.4.1. Utjecaj ostatne vlage na svojstva produkta ... 10

1.4.2. Vlaga kao plastifikator ... 10

1.4.3. Vlaga i stabilnost produkta ... 11

1.4.4. Utjecaj procesnih parametara na sadržaj ostatne vlage u produktu ... 12

1.5. Alginat kao polimer izbora u izradi farmaceutskih pripravaka ... 13

2. OBRAZLOŽENJE TEME ... 15

3. MATERIJALI I METODE ... 17

3.1. MATERIJALI ... 18

3.2. METODE ... 18

3.2.1. Dizajn eksperimenta ... 18

3.2.2. Priprava alginatnih mikročestica ... 18

3.2.3. Određivanje iskorištenja procesa ... 20

3.2.4. Određivanje veličine alginatnih mikročestica ... 20

3.2.5. Određivanje morfologije alginatnih mikročestica ... 21

3.2.6. Određivanje sadržaja vlage u alginatnim mikročesticama ... 23

4. REZULTATI I RASPRAVA ... 24

4.1. Dizajn eksperimenta ... 25

4.2. Iskorištenje procesa 28

4.3. Veličina alginatnih mikročestica 28

4.4. Morfologija alginatnih mikročestica..... 30

4.5. Sadržaj vlage u alginatnim mikročesticama 34

5. ZAKLJUČCI..... 37

6. LITERATURA..... 38

7. SAŽETAK 46

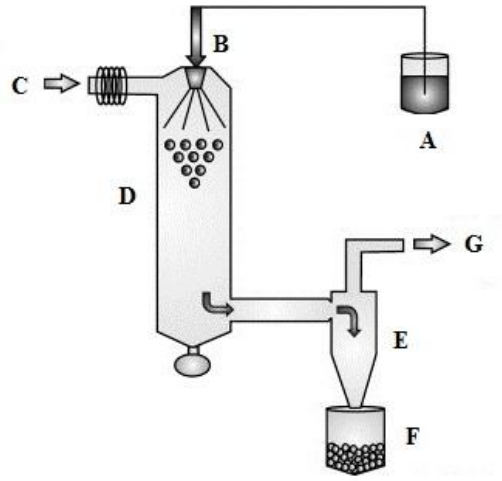
Temeljna dokumentacijska kartica..... 48

Basic documentation card..... 49

1. UVOD

1.1. Sušenje raspršivanjem

Začeci sušenja raspršivanjem sežu još u 19. stoljeće, no trebalo je skoro pola stoljeća da se razvije metoda i uređaj za korištenje u znanosti i industriji. Sušenje raspršivanjem može se primijeniti na otopine, suspenzije ili emulzije. Princip procesa je izolacija čvrstih čestica uklanjanjem disperzijskog sredstva koje isparava nakon kontakta s medijem za sušenje (Keegan i sur., 2001). Postupak se sastoji od nekoliko faza i kombinira više parametara (Slika 1). Peristaltičkom pumpom uzorak (otopina, emulzija ili suspenzija) se dovodi do sapnice na kojoj se raspršuje pri ulasku u komoru za sušenje. Sapnica može biti bifluidna, multifluidna, pneumatska i ultrazvučna. U farmaceutskoj tehnologiji najčešće se koriste bifluidne sapnice. Raspršeni (atomizirani) uzorak u komori za sušenje dolazi u dodir s vrućim plinom, odnosno medijem za sušenje. Najčešće korišteni mediji za sušenje su vrući zrak, zatim dušik, argon i CO_2. U komori za sušenje nastaje podtlak radom aspiratora koji kontrolira protok medija za sušenje kroz uređaj. Omjeri visine i promjera komore za sušenje najčešće su 5:1 ili 2:1. Tok medija za sušenje u komori može biti u smjeru ciklona koji se nastavlja na komoru za sušenje (uz produkt; Slika 1.), u smjeru suprotnom ciklonu, a moguća je i kombinacija protoka. Suhi se produkt odvaja od medija za sušenje pomoću ciklona, koji također može biti raznih veličina. Sakuplja se u prihvatnu posudu koja se nalazi ispod ciklona. Svojstva svakog od navedenih dijelova uređaja za sušenje raspršivanjem određuju raspon parametara koji utječu na konačni ishod sušenja, odnosno na svojstva dobivenog produkta (Singh i Van den Mooter, 2015).



Slika 1: Shema uređaja za sušenje raspršivanjem (A – uzorak, B – sapnica, C – medij (plin) za sušenje, D – komora za sušenje, E – ciklon, F – prihvatna posuda za produkt, G – ispušni ventil) (prilagođeno prema Sosnik i Seremeta, 2015)

Parametri sušenja raspršivanjem koje je moguće prilagoditi svojstvima raspršivanog uzorka i željenim svojstvima osušenog produkta su: brzina dotoka uzorka, ulazna temperatura, tlak na sapnici i protok medija za sušenje. Temperatura vrućeg zraka (medija za sušenje) koji u kontaktu s kapljicama uzorka uzrokuje isparavanje otapala i time sušenje čestica, je ulazna temperatura (engl. *inlet temperature*). Mjeri se prije ulaska zraka u komoru za sušenje i regulira se ovisno o potrebama eksperimenta. Izlazna temperatura (engl. *outlet temperature*) je temperatura zraka koji, zajedno s čvrstim, suhim česticama napušta komoru za sušenje tj. odlazi prema ciklonu. Ona se ne može regulirati, već je rezultat ravnoteže prijenosa topline i mase tijekom sušenja. Zbog velikog gubitka vlage i prijenosa mase i topline, suhe čestice imaju jednaku temperaturu kao zrak koji napušta komoru za sušenje, dakle izlazna temperatura je ustvari maksimalna temperatura produkta. Za separaciju produkta iz struje plina za sušenje najčešće se koristi ciklon. U ciklonu se stvara centrifugalni tok zbog bočnog (tangencijalnog) ulaza plina s čvrstim česticama. Zbog vrtloženja zraka čestice prvo zaostaju na stijenkama ciklona pa zbog gravitacije i smjera strujanja zraka padaju dolje u prihvatnu posudu. Kada plinovita faza, to jest zrak, dođe do dna ciklona, smjer vrtloga se obrne i zrak izlazi kroz ispuh na vrhu ciklona (Singh i Van den Mooter, 2015).

Čestice dobivene sušenjem raspršivanjem su amorfne i velike specifične površine. Variranjem parametara sušenja može se utjecati na svojstva produkta. U ovom procesu nije naglasak na odvajanju otapala od čestica, već dobivanju suhih čestica točno određenih svojstava, na primjer veličine, oblika, topljivosti. O tome će više riječi biti kasnije (*1.3. Svojstva (mikro)čestica dobivenih sušenjem raspršivanjem*). Iako se tijekom sušenja postižu visoke temperature, proces je prikladan i za termolabilne tvari jer se čestice suše isparavanjem otapala, što ih ujedno i hladi. Sam postupak je i relativno brz, što je još jedna prednost (Jalšenjak i sur., 1998).

1.2. Primjena sušenja raspršivanjem u istraživanju i razvoju lijekova

1.2.1. Priprava prašaka

Sušenje raspršivanjem najprije je primjenjivano u prehrambenoj industriji, no danas ima nezamjenjivu ulogu u farmaceutskoj industriji za brojne svrhe. Koristi se pri pripravi prašaka prikladnih za direktno tabletiranje. Naime, sušenjem raspršivanjem otopina/disperzija pomoćnih tvari moguće im je poboljšati svojstva tečenja i kompresibilnosti. Postoje komercijalno dostupne mješavine za direktno komprimiranje, na primjer mješavina α-laktoza monohidrata, polivinilpirolidona i krospovidona (Ludipress), kombinacija celuloze i kalcijevog fosfata (Cel-o-Cal), mješavina mikrokristalične celuloze i laktoza monohidrata (Microlac 100), zatim Lactopress Spray Dried i SuperTab SD, sferični aglomerati kristaličnog laktoza monohidrata u matriksu amorfne laktoze (www.dfepharma.com). Za direktno tabletiranje potrebno je samo pomiješati ove mješavine s djelatnom tvari i drugim pomoćnim tvarima. Sušenjem raspršivanjem moguće je i promijeniti talište djelatne tvari kako bi se izbjegla spontana rekristalizacija, do koje može doći zbog visokog tlaka u proizvodnom procesu (Solohub i Cal, 2009).

1.2.2. Poboljšanje farmakokinetičkih svojstava lijekova

Poboljšanje topljivosti, brzine otapanja i bioraspoloživosti lijekova također se mogu postići sušenjem raspršivanjem. To je iznimno bitno jer je sve više novih (potencijalnih) lijekova slabo topljivih u vodi. Brzinu otapanja najjednostavnije je povećati smanjenjem veličine čestica koje je potrebno otopiti. Time se povećava specifična površina kojom je čestica u kontaktu s otapalom. Najlakše je usitniti čestice mikronizacijom pomoću raznih vrsta mlinova (mlinovi s čekićima, mlazni mlinovi, koloidni mlinovi, mlinovi tipa trovaljka i drugi). Međutim, mljevenje je proces koji zahtjeva puno energije, nije moguće kontrolirati i birati svojstva čestica, a može doći i do promjene kristalnog oblika i drugih svojstava. Sve to utječe na stabilnost konačne formulacije, odnosno gotovog lijeka. Tu se vidi prednost sušenja raspršivanjem, koje dopušta kontrolu veličine, oblika i močivosti čestica (Solohub i Cal, 2009). Topljivost i bioraspoloživost tvari mogu se poboljšati i korištenjem biokompatibilnih nosača. Primjerice, indometacin i nifedipin su lijekovi slabo topljivi u vodi. Uklapanjem tih molekula u poroznu strukturu čestica laktoze dobivenih sušenjem raspršivanjem topljivost im je značajno poboljšana (Ebrahimi i sur., 2017).

Postupak sušenja raspršivanjem može se iskoristiti i za pripravu terapijskih sustava s produljenim ili odgođenim oslobađanjem lijeka. Provedena su ispitivanja u kojima je antibiotik vankomicin bio otopljen u vodenoj fazi, a kopolimer mliječne i glikolne kiseline u vanjskoj, organskoj fazi. Zajedno su činili emulziju tipa voda u ulju (V/U) koja je sušena raspršivanjem. Zaključeno je da postoji mogućnost postizanja modificiranog oslobađanja vankomicina mijenjanjem omjera polimera i antibiotika u procesu (Solohub i Cal, 2009).

1.2.3. Oblikovanje bioloških lijekova

Bitan aspekt današnje farmaceutske tehnologije izrada je terapijskih sustava bioloških lijekova. Najčešća metoda proizvodnje proteinskih lijekova dugo je bila liofilizacija (sušenje smrzavanjem). S napretkom biotehnologije, javljaju se potrebe za novim metodama oblikovanja proteina. Sušenje raspršivanjem djeluje kao dobra alternativa, no istraživanja pokazuju da postoji popriličan broj problema kod korištenja te metode, od kojih je glavni premala učinkovitost (maksimalno iskorištenje od 50 %). Taj problem je djelomično rješiv korištenjem manjih ciklona koji osiguravaju uspješnu separaciju čestica manjih od 2 μm iz struje plina za sušenje. Nadalje, iako pri sušenju raspršivanjem praktički ne može doći do toplinske denaturacije proteina, može se dogoditi denaturacija uslijed dehidracije, odnosno zbog remećenja vodikovih veza. Stoga je potrebno koristiti tvari koje bi mogle tvoriti te vodikove veze umjesto vode, na primjer trehalozu (Solohub i Cal, 2009, Kanojia i sur., 2016). Zbog brzog isparavanja otapala prilikom sušenja može doći do oštećenja osjetljivijih proteina, primjerice rekombinantnog humanog hormona rasta te goveđeg albumina. Da bi se spriječilo nastajanje proteinskih agregata, u otopinu koja se suši dodaju se cink (Zn^{2+}) i polisorbat 20. Morfologija dobivenih čestica može se regulirati mijenanjem koncentracije raspršivanog uzorka, ulazne temperature i sadržaja zaštitnih tvari u otopini. Uz proteine, radi se na razvoju metode za pripravu cjepiva sušenjem raspršivanjem, koja bi prvenstveno bila za pulmonalnu primjenu (Solohub i Cal, 2009). Na primjer, cjepivo protiv tuberkuloze dobiveno je sušenjem raspršivanjem te je ostalo relativno stabilno 56 dana pri uvjetima ubrzanog starenja, pri temperaturama od 4°C, 25°C (60% relativne vlažnosti) i 40°C (75% relativne vlažnosti) (Wong i sur., 2007). Ovo i brojna druga istraživanja pokazuju veliki potencijal primjene metode sušenja raspršivanjem u razvoju komercijalno dostupnih cjepiva za pulmonalnu primjenu.

1.2.4. Prašci inhalata

Osim za pripravu cjepiva, sušenje raspršivanjem često se koristi za pripravu terapijskih sustava za primjenu putem dišnog sustava. Tako je 2006. godine na tržište došao lijek Exubera. To je prvi pripravak inzulina za pulmonalnu primjenu gdje je inzulin uz manitol kao pomoćnu tvar oblikovan u prašak dobiven sušenjem raspršivanjem (Hollander, 2007). Iako je on neslavno završio povlačenjem s tržišta niti dvije godine nakon odobrenja, većinom zbog cijene i nepraktične veličine inhalatora, bitan je primjer upotrebe sušenja raspršivanjem. Suvremena istraživanja dijelom su usmjerena na razvoj biokompatibilnih nosača antibiotika i kemoterapeutika za pulmonalnu primjenu, s ciljem smanjenja njihove sistemske toksičnosti i poboljšanja djelotvornosti u liječenju plućnih bolesti. To je posebno značajno za lijekove namijenjene liječenju cistične fibroze. Pacijenti s cističnom fibrozom podložni su infekcijama bakterijom *Pseudomonas aeruginosa*, koja je otporna na imunosni sustav i na antibiotike, zbog stvaranja biofilma koji ju štiti. U jednom ispitivanju otopina antibiotika klaritromicina i muklolitika N-acetilcisteina sušena je raspršivanjem kako bi se dobile mikročestice prikladne za pulmonalnu primjenu (promjera manjeg od 5 μm). Zahvaljujući interakciji N-acetilcisteina s dimetilamino skupinom na šećernom ostatku klaritromicina postignuta je bolja topljivost u usporedbi sa samim klaritromicinom. Nadalje, dodatak mukolitika olakšava difuziju lijeka kroz sluz, odnosno biofilm, čime se pospješuje antibakterijsko djelovanje (Maniello i sur., 2017). Istražuje se i uklapanje nanočestica u mikročestice kako bi se mogla postići primjena lijeka u pluća. Rađeno je istraživanje čiji je cilj bio poboljšati dijagnozu karcinoma pluća. U tom istraživanju nanočestice zlata prevučene su biokompatibilnom optički stabilnom fluorescentnom ovojnicom i konjugirane s lamininom te ukomponirane u mikročestice s kitozanom pomoću sušenja raspršivanjem sa superkritičnim fluidom CO_2. Tako su dobivene čestice prikladnih svojstava da mogu doprijeti do pluća (Silva i sur., 2017). Osim za izradu pripravka inzulina za inhalacijsku primjenu, sušenje raspršivanjem korišteno je i u procesu formulacije inzulina za peroralnu primjenu. Kompleks inzulina s natrijevim deoksikolatom uklopljen je u nanočestice pripravljene od kopolimera mliječne i glikolne kiseline, koje su dalje uklopljene u matriks hidroksipropilmetilceluloze ftalata. Navedeni polimer osjetljiv je na promjenu pH pa je tako postignuto ciljano oslobađanje lijeka u crijevima i spriječena opsežna razgradnja inzulina. Ova formulacija dobar je kandidat za oralnu primjenu inzulina (Sun i sur., 2016).

1.2.5. Sušenje raspršivanjem mikroorganizama i biljnih materijala

Za farmaceutsku industriju bitna su i saznanja o ponašanju živih mikroorganizama tijekom sušenja raspršivanjem. Mnogi mikroorganizmi koriste se za dobivanje bioloških lijekova, kvasci se koriste kao biokatalizatori, a neke bakterije kao probiotici. Sušenje raspršivanjem živih mikroorganizama zahtjevan je proces, s obzirom da se tijekom sušenja na više načina oštećuje bakterijska stanica, počevši od membrane pa do razine DNA i ribosoma. Neki od razloga oštećenja su visoka temperatura i brzo isparavanje vode, odnosno otapala. Međutim, ispitivanja su pokazala da je moguće prilagoditi uvjete sušenja da se dobije suhi prah mikroorganizama, što bi moglo biti korisno pri izradi pripravaka probiotika (Solohub i Cal, 2009). Nadalje, i suhi ekstrakti biljnog materijala često se dobivaju metodom sušenja raspršivanjem. Dobivene čestice su higroskopne, loših svojstava tečenja te nisu prikladne za tabletiranje ili uklapanje u kapsule. Navedeni nedostaci suhog produkta biljnog materijala mogu se riješiti granuliranjem koristeći otopinu Eudragita E (bazični kopolimer metakrilata) u acetonu, što može osigurati dobivanje manje higroskopnog produkta boljih reoloških svojstava (Solohub i Cal, 2009).

Bitno je napomenuti i da se postupak sušenja raspršivanjem može provoditi u aseptičkim uvjetima, korištenjem HEPA filtera za zrak, sterilizacijom sapnice i komore za sušenje te brzim sakupljanjem produkta (Solohub i Cal, 2009), što osigurava još veći potencijal primjene metode sušenja raspršivanjem u izradi ljekovitih pripravaka.

1.3. **Svojstva (mikro)čestica dobivenih sušenjem raspršivanjem**

Jedna od glavnih prednosti sušenja raspršivanjem je mogućnost kontrole i dobivanja čestica točno određenih svojstava. Razlog tome je što se nakon kontakta s medijem za sušenje temperatura čestice povisuje u tri faze dok čestica prelazi iz kapljice u suhu česticu. Brzina isparavanja otapala može odrediti konačnu morfologiju čestica. Pod pojmom *morfologija čestica* podrazumijeva se njihova veličina, oblik, struktura i površinska svojstva. Na početku sušenja, kapljica se brzo zagrijava i još ne dolazi do promjene mase. Kako otapalo isparava s površine i iz unutrašnjosti, dolazi do formiranja ovojnice na čestici. Gubitak vlage, odnosno otapala, ide do određene razine nakon koje se više ne može ukloniti sušenjem. Ostatni sadržaj vlage u čestici koja napušta komoru za sušenje predstavlja ravnotežnu vlagu koja ovisi o relativnoj vlažnosti zraka koji zajedno sa suhom česticom napušta komoru za sušenje. Što je sporije isparavanje otapala, čestice su gušće, dok brzo isparavanje rezultira česticama manje gustoće, čime se mogu dobiti porozne ili šuplje čestice. Brzina isparavanja, kao i morfologija čestica, ovisi o korištenom otapalu. Potrebno je uzeti u obzir i topljivost tvari, površinsku aktivnost sastavnica te konformaciju polimera u otopini. Kao što je već prije navedeno, dobivene čestice su amorfne pa im je poboljšana topljivost (Singh i Van den Mooter, 2015).

Brojni procesni parametri utječu na svojstva konačnog produkta. Na primjer, izmjenom dotoka uzorka, ulazne i izlazne temperature, vrste i brzine protoka medija za sušenje i vrste sapnice mogu se promijeniti veličina i kristalna svojstva sušenog materijala. To izravno utječe na poroznost, svojstva tečenja, adsorpcijska svojstva, topljivost i bioraspoloživost. Bitno je naglasiti da postoje kompleksne veze i interakcije između parametara i njihovog utjecaja na svojstva suhog praškastog produkta. Veličina čestica, primjerice, rezultat je kombiniranog utjecaja koncentracije otopine, veličine otvora sapnice, temperature medija za sušenje i brzine dotoka uzorka, ali i tlaka na sapnici (Singh i Van den Mooter, 2015).

Brzina dotoka uzorka utječe na veličinu kapljica, njihovu raspodjelu i brzinu sušenja. Bitan je i njen utjecaj na izlaznu temperaturu, odnosno na razliku između ulazne i izlazne temperature. Poželjno je da razlika između ulazne i izlazne temperature bude što manja, kako bi se maksimalno smanjio sadržaj vlage u konačnom produktu. Što je brzina dotoka uzorka veća, postupak traje kraće. Međutim, u jediničnom vremenu potrebno je osušiti veću količinu uzorka za što je potrebno više energije, pa se smanuje izlazna temperatura. Ukoliko je dotok uzorka prebrz, dobiju se čestice koje nisu dovoljno suhe pa se lijepe za stijenke ciklona ili dolazi do vlaženja stijenki cilindra, odnosno komore za sušenje. Sve to rezultira smanjenim iskorištenjem te neprikladnim, previše vlažnim produktom (Singh i Van den Mooter, 2015).

Variranjem ulazne temperature mogu se dobiti čestice različitog oblika i površine, na primjer grube površine (Singh i Van den Mooter, 2015). Što je veća ulazna temperatura, veći je i promjer čestice. Ukoliko je temperatura previsoka, može doći do nastajanja ovojnice, a nakon što ispari otapalo iz unutrašnjosti čestice, odnosno ispod te ovojnice, nastane kolabirana čestica (Hsu i sur., 1996, Stahl i sur., 2002, Sahoo i sur., 2008). Moguće je da je porast veličine čestica pri višim ulaznim temperaturama rezultat veće učestalosti aglomeracije (Broadhead i sur., 1994). Viša ulazna temperatura dovodi do bržeg sušenja čestica, što rezultira ubrzanim prijelazom ravnotežnog tekućeg stanja u neravnotežno kruto stanje. Zato viša ulazna temperatura dovodi i do više temperature stakliša produkta (Tg). Time je i smanjena mogućnost lijepljenja vlažnih čestica za stijenke komore za sušenje, što rezultira boljim iskorištenjem (Martins i sur., 2011, Singh i Van den Mooter, 2015).

Atomizacija i vrsta medija, odnosno plina za sušenje, uz ulaznu temepraturu, glavni su čimbenici u procesu sušenja raspršivanjem. Plin za sušenje može utjecati na veličinu kapljica uzorka, broj čestica u određenom volumenu (gustoću broja čestica) i brzinu sušenja, što posljedično sve djeluje na svojstva konačnog produkta. Za dobivanje manjih i bržih kapljica potrebno je koristiti lakše plinove (Singh i Van den Mooter, 2015). Protok medija za sušenje u sustavu može se regulirati mijenjanjem brzine aspiratora. Ta postavka ima značajan učinak na sposobnost sušenja raspršenog uzorka. Što je veća brzina aspiratora, bolja je separacija čestica u ciklonu, ali je i veći sadržaj vlage u produktu (Singh i Van den Mooter, 2015).

Vrsta sapnice može značajno utjecati na veličinu kapljica, raspodjelu veličina dobivenih čestica, njihovu brzinu te na kut i veličinu stošca raspršenih čestica. Na primjer, povećanje brzine dotoka uzorka do bifluidne sapnice rezultirat će većim kapljicama uzorka, dok će u tom slučaju kod tlačne sapnice veličina kapljica biti manja (Singh i Van den Mooter, 2015).

Za konačne rezultate sušenja bitan je i način sakupljanja dobivenih čestica. Produkt se može sakupljati s dna komore za sušenje, za što se koriste vibrirajući uređaji, komprimirani zrak ili mehanički kistovi (Singh i Van den Mooter, 2015).

1.4. Ostatna vlaga u osušenom produktu

1.4.1. Utjecaj ostatne vlage na svojstva produkta

Većina kemijskih reakcija razgradnje najbrže se odvija u otopinama, a najsporije kad je tvar u kristalnom obliku. Kao što je već spomenuto, produkt dobiven sušenjem raspršivanjem je amorfan. Amorfno čvrsto stanje stabilnije je od otopine, no ipak podložnije razgradnji od kristalne faze. Jedan od najčešćih faktora koji utječu na stabilnost suhih pripravka je vlaga. Ona može biti dovedena pripravku tijekom skladištenja, ili može zaostati nakon određenih proizvodnih procesa kao što su sušenje raspršivanjem, liofilizacija i drugi (ostatna vlaga) (Ohtake i Shalaev, 2012). Sadržaj vlage u uzorku može imati značajan utjecaj na razna kemijska i fizička svojstva tvari; na kemijsku razgradnju, brzinu otapanja, svojstva tečenja i kompresibilnost praška (Ahlneck i Zografi, 1990). Razlike u sadržaju vlage u produktu mogu utjecati i na iskorištenje proizvodnog procesa (Langrish i Chiou, 2008). Međutim, utjecaj vlage na stabilnost uvelike ovisi o tome koji sustav se promatra. Neke razgradne procese voda čak i inhibira. Vlaga, odnosno voda utječe na stabilnost pripravka preko različitih mehanizama. Može djelovati kao plastifikator, sudjelovati u kemijskoj reakciji kao reaktant ili produkt te može modificirati medij u kojem se odvija reakcija (Ohtake i Shalaev, 2012). Nadalje, neke tvari su izrazito podložne hidrolizi. Za njih je bitno što više smanjiti sadržaj vlage u uzorku. Produkti dobiveni sušenjem raspršivanjem imaju niži sadržaj vlage u odnosu na praške fizički pomiješane pistilom u tarioniku. Nizak sadržaj vlage u čvrstim disperzijama rezultat je isparavanja vode iz mješavine tijekom procesa sušenja. Prisutnost visokog sadržaja vlage u čvrstoj disperziji slabo topljivog analgetika piroksikama i polivinilnog alkohola navodi na zaključak da produkt nije u potpunosti suh nakon sušenja raspršivanjem. Kao što se i očekuje, sadržaj vlage raste ukoliko se produkt skladišti u vlažnim uvjetima tijekom 7 dana (Chan i sur., 2016).

1.4.2. Vlaga kao plastifikator

Kod amorfnih krutina ne postoji uređenost dugog dometa. Molekule nisu pravilno, gusto posložene, nego nasumično. Između njih ima mjesta za molekule vode, zato većina amorfnih materijala može apsorbirati veliku količinu vlage (Jalšenjak i sur., 1998). Voda je prepoznata kao neizbježna treća komponenta u disperzijskim sustavima hidrofilnih polimera (He i Ho, 2015). Kemijska razgradnja tvari u amorfnom stanju u većini slučajeva povezana je s

povećanjem pokretljivosti molekula. Do toga može doći dovođenjem energije (primjerice povišenjem temperature) ili porastom sadržaja vode. Rezidualna vlaga od iznimne je važnosti zbog utjecaja na temperaturu staklišta sušene tvari (Singh i Van den Mooter, 2015). Temperatura staklišta je temperatura prijelaza iz stanja "gume" u stanje "stakla", odnosno iz stanja veće u stanje manje pokretljivosti molekula (Jalšenjak i sur., 1998). To je fizičko svojstvo amorfne tvari koje može dramatično utjecati na kemijsku i fizičku stablinost tvari te viskoelastična svojstva (Hancock i Zografi, 1994). Kada dođe do porasta sadržaja vode pri konstantnoj temperaturi, poveća se pokretljivost polimernih lanaca u amorfnoj tvari, što dovodi do sniženja temperature staklišta (Ohtake i Shalaev, 2012). To može imati dvostruki utjecaj, i na stabilnost produkta, i na iskorištenje procesa. Ukoliko je izlazna temperatura veća od temperature staklišta produkta pri određenom sadržaju otapala, može doći do lijepljenja čestica za stijenke ciklona što rezultira smanjenim iskorištenjem procesa (Singh i Van den Mooter, 2015).

1.4.3. Vlaga i stabilnost produkta

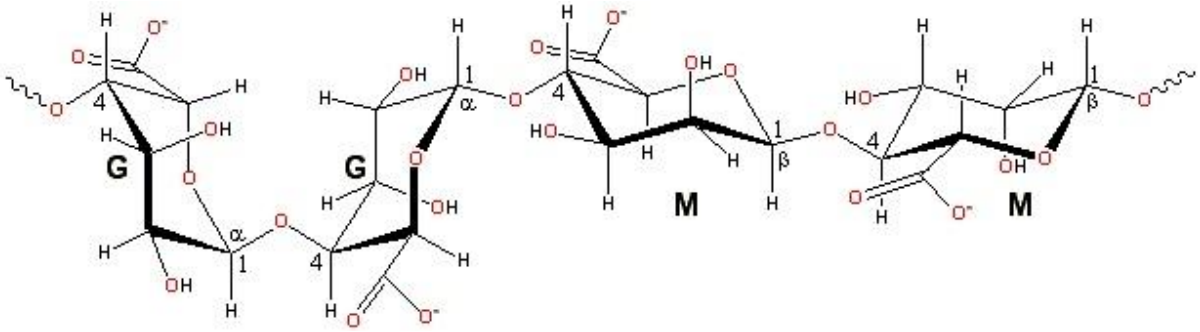
Izloženost vlazi tijekom procesa sušenja raspršivanjem može dovesti do kristalizacije produkta (Singh i Van den Mooter, 2015). Osim snižavanjem temperature staklišta, zabilježeno je da visoka temperatura i relativna vlažnost mogu potaknuti odvajanje faza i kristalizaciju čvrstih disperzija tako što povećaju pokretljivost molekula (Aso i sur., 2000, Bhugra i Pikal, 2008, Marsac i sur., 2008, Yang i sur., 2010) ili remete interakcije između lijeka i polimera, što dovodi do smanjenog otapanja. Više vode, odnosno vlage, adsorbiraju disperzije s većom koncentracijom polimera. Uzorci pripremljeni pri većoj relativnoj vlažnosti također adsorbiraju više vode te je potrebno duže vrijeme da se postigne ravnotežno stanje (Tian i sur., 2014). Voda je uključena i u većinu problema stabilnosti pripravka. Ovo se pogotovo odnosi na peptide i proteine. Sadržaj vlage u formulacijama kao što su prašci inhalata i količina vode adsorbirane na čestice utječu na fizičku stabilnost i kontroliraju veličinu kapilarnih sila koje uzrokuju agregaciju čestica. Postotak vode u formulacijama obloženim lipidima postupno se smanjuje s porastom debljine lipidne ovojnice. Važno je dobiti produkt sa sadržajem vlage unutar prikladnih granica kako bi se izbjegla pojava elektrostatskog naboja i veza koji bi doveli do više međučestičnih interakcija (Depreter i Amighi, 2010).

1.4.4. Utjecaj procesnih parametara na sadržaj ostatne vlage u produktu

Više procesnih parametara utječe na sadržaj vlage u konačnom produktu sušenja raspršivanjem. Istraživanje koje su proveli Kanojiaa i suradnici (2016) navodi da su faktori koji najviše utječu na sadržaj vlage tlak na sapnici i ulazna temperatura. Viša temperatura ili tlak na sapnici rezultirali su smanjenim udjelom ostatne vlage, dok je povećanje brzine dotoka uzorka uzrokovalo povećanje istog. Ako je veći tlak na sapnici, dobiju se manje kapljice uzorka pa se bolje suše. Što je veća ulazna temperatura, manja je relativna vlažnost zraka oko čestica pa je manja mogućnost adsorpcije vode. Povećanje brzine dotoka uzorka značajno je utjecalo na količinu ostatne vlage. U istom radu proučavan je i utjecaj prije spomenute trehaloze koja "zamjenjuje" vodu u pogledu stvaranja vodikovih veza. Veća koncentracija trehaloze znači da treba ispariti manje vode, pa je manji i njen konačni sadržaj u produktu (Kanojiaa i sur., 2016). Na konačan sadržaj vlage utječe i veličina ciklona. Kod malih ciklona ostatna vlaga pri niskim izlaznim temperaturama puno je veća nego kod standardnih ciklona. Usprkos tome, veća iskorištenja dobivaju se korištenjem manjeg ciklona, zahvaljujući efikasnijoj separaciji manjih čestica iz struje plina za sušenje (Bögelein i Lee, 2010).

1.5. Alginat kao polimer izbora u izradi farmaceutskih pripravaka

Alginati su prirodni polisaharidi dobiveni iz smeđih algi. Kod prirodnih materijala teže je postići istovjetnost i reproducibilnost jer se prirodni materijali međusobno uvelike razlikuju. Alginati, uz kitozan, najviše su korišteni prirodni polimeri u farmaceutskoj tehnologiji. Sastoje se od nerazgranatih kopolimera od β-D-manuronske i α-L-guluronske kiseline (Slika 2). Redoslijed podjedinica razlikuje se ovisno o izvoru. Fizičko–kemijska svojstva, kao što su viskoznost, vezanje kationa, svojstvo bubrenja i geliranje, ovise o molekulskoj masi polimera, udjelu manuronske i guluronske kiseline te njihovom rasporedu u polimernom lancu. Alginat je topljiv u vodi ukoliko nisu prisutni dvovalenti kationi. U prisutstvu dvovalentnih kationa, primjerice Ca^{2+}, alginat se umrežava i više nije topljiv u vodi, već stvara strukturu gela. Te strukture bivaju razorene u prisutstvu kelatora kalcijevih iona. Osim s metalnim kationima, alginati tvore čvrste komplekse i s prirodnim te sa sintetskim kationskim polimerima. Stoga se oni koriste za stabiliziranje alginatnih gelova ili za smanjenje njihove poroznosti. Alginati su biokompatibilni i udovoljavaju zahtjevima za primjenu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Postoji i mogućnost primjene alginata u izradi implantata, no onda posebnu pažnju treba obratiti na prisutnost pirogena i imunogenih tvari (Jalšenjak i sur., 1998.).



Slika 2: Strukutura alginta (G – guluronska kiselina, M – manuronska kiselina) (prilagođeno prema www1.lsbu.ac.uk)

Trenutno se proizvodi više od 200 različitih vrsta alginata (Tønnesen i Karlsen, 2002). Alginat se u farmaceutskoj industriji većinom koristi kao pomoćna tvar. Međutim, sve je više istraživanja gdje se dokazuju i njegovi biomedicinski učinci primjenjivi pri liječenju određenih patofizioloških stanja. Provedeno je ispitivanje u 7 muškaraca s dobro kontroliranim dijabetesom tipa 2 koji su konzumirali doručak sa ili bez 5 grama natrijevog alginata. Pokazano je da je brzina pražnjenja želuca u pacijenata koji su konzumirali alginat bila značajno sporija. Također, natrijev je alginat inducirao sporiji postprandijalni porast glukoze u krvi, serumskog inzulina i plazmatskog C – peptida, što je moguće povezano s

odgođenim pražnjenjem želuca (Torsdottir i sur., 1991). U drugom istraživanju cilj je bio procijeniti utjecaj kalcijevog alginata i parafinske gaze na cijeljenje donorskih mjesta za usatke kože. Nakon 10 dana, u 70% pacijenata tretiranih kalcijevim alginatom rana je u potpunosti zacijelila, dok je kod parafinskog dijela rana zacijelila samo u trećine pacijenata (O'Donoghue, 1997). S obzirom da kalcijev alginat uzorkuje hemostazu, primjenjuju se obloge s alginatom za eksudativne rane te rane koje krvare. Kako alginat stvara gel, olakšano je previjanje rana i smanjena je bol koju pacijent osjeća tijekom previjanja, odnosno promjene obloge (Paul i Sharma, 2004). Za eksudativne rane ispitivan je i *in situ* formirajući hidrogel koji se sastoji od želatine, oksidiranog alginata i boraksa, odnosno natrijeve soli borne kiseline. Taj hidrogel pokazao je dobra svojstva za tretiranje eksudativnih rana (Balakrishnan i sur., 2005).

Svojstvo formiranja gela u prisutstvu Ca^{2+} iona iskorišteno je i kod želučanog refluksa. Alginat se primjenjuje u kombinaciji s antacidima. Antacidi neutraliziraju želučanu kiselinu, a alginat obloži sluznicu jednjaka tako da ukoliko i dođe do refluksa, ne dođe do erozije sluznice jednjaka, što je inače često kod refluksne bolesti (Kwiatek i sur., 2011).

U farmaceutskoj tehnologiji alginat se koristi za izradu raznih novih terapijskih sustava i za poboljšanje bioraspoloživosti te olakšavanje oblikovanja lijekova. Primjerice, čestice trandolaprila (antihipertenziv, inhibitor acetilkolin esteraze) s ovojnicom od alginata i laktoze pripravljene sušenjem raspršivanjem bile su jednako topljive kao kristalične čestice, a imale su više talište od samog tradnolaprila. To omogućuje izradu tableta brzim postupkom (Makai i sur., 2008). Nadalje, kurkumin i resveratrol imaju antitumorski potencijal, no vrlo su loše topljivi u vodi i imaju malu bioraspoloživost. Uklapanjem tih polifenola u nanočestice kalcijevog alginata postignuta je veća bioraspoloživost. Ljekoviti pripravak pokazao se sigurnim za intravensku primjenu (Saralkar i Dash, 2017). Alginat se također koristi za postizanje kontroliranog oslobađanja i ciljane dostave lijeka. Istražena je upotreba alginata u svrhu vaginalne primjene antimikrobnog lijeka protiv HIV-a. Koristeći metodu sušenja raspršivanjem dobivene su alginatne mikročestice koje su dalje obložene slojem kitozan tiolata. Rezultati pokazuju potencijal korištenja tih višeslojnih mikročestica za opisanu primjenu lijeka (Meng i sur., 2017). Alginat je pronašao ulogu i u stomatologiji, gdje se koristi za izradu otisaka zubi (Nallamuthu i sur., 2012).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Sušenje raspršivanjem danas je nezaobilazan proces u istraživanju i razvoju lijekova. Koristi se u raznim fazama proizvodnje lijekova, a najviše u razvoju tehnoloških platformi za proizvodnju lijekova s unaprijeđenom vrijednošću. Jedna od najbitnijih prednosti takvog postupka je prikladnost za sušenje termolabilnih tvari zbog brzog isparavanja otapala, što hladi same čestice. Tvari se suše raspršivanjem s ciljem dobivanja prašaka za direktno komprimiranje, poboljšanja topljivosti i bioraspoloživosti, izrade terapijskih sustava s produljenim ili odgođenim oslobađanjem lijeka. Postupak može biti prikladan i za biološke molekule, primjerice proteine, te mikroorganizme, čije oblikovanje predstavlja poseban izazov u farmaciji. Sušenje raspršivanjem veoma je zastupljeno u razvoju mikročestica kao terapijskih sustava za nazalnu i pulmonalnu primjenu. Razlog tome je činjenica da se variranjem procesnih i formulacijskih parametara mogu prilagoditi svojstva čestica mjestu primjene i postići željeni profil oslobađanja lijeka. Zbog toga je bitno znati kakva je međuovisnost parametara priprave i svojstava produkta kako bi se sam postupak priprave mogao optimirati.

Ostatna vlaga, odnosno voda zaostala u produktu nakon sušenja važno je svojstvo produkta sušenja raspršivanjem. Osim što utječe na iskorištenje procesa, vlaga je često uzrok nestabilnosti određene formulacije lijeka. Vlaga može uzrokovati razgradnju djelatnih tvari, pogotovo onih podložnih hidrolizi, zatim može djelovati kao plastifikator te sniziti temperaturu stakliša (T_g) amorfne tvari.

Cilj ovog rada bio je pripraviti alginatne mikročestice metodom sušenja raspršivanjem te ispitati utjecaj brzine dotoka uzorka i protoka medija za sušenje (vrućeg zraka) kroz sustav na iskorištenje procesa, sadržaj ostatne vlage i veličinu čestica u produktu dobivenom sušenjem raspršivanjem. U tu svrhu korišten je puni faktorijalni dizajn. Svaki od čimbenika (brzina dotoka uzorka i protoka zraka kroz sustav) promatran je na tri razine, čime je generirana matrica s devet (3^2) eksperimenata. Otopina natrijevog alginata sušena je raspršivanjem pri uvjetima konstantne ulazne temperature i tlaka na sapnici korištenjem uređaja s bifluidom sapnicom (Büchi 190 Mini Spray Dryer), sa zrakom kao medijem za sušenje. Veličina čestica određena je mikroskopskom analizom slike i računalnom obradom programom Optomax V. Za određivanje sadržaja vlage u gotovom produktu korištena je metoda termogravimetrijske analize. Dobiveni rezultati analizirani su korištenjem programa za statističku obradu podataka JMP.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MATERIJALI

U izradi ovog diplomskog rada korišten je natrijev alginat Protanal CR 8223 čija 1,25%-tna vodena otopina (*m*/*V*) ima viskoznost od 600 do 900 mPa·s (FMC BioPolymer, Philadelphia, SAD) i pročišćena voda.

3.2. METODE

3.2.1. Dizajn eksperimenta

S ciljem određivanja utjecaja procesnih parametara na svojstva alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem primijenjen je koncept kakvoće utemeljene kroz dizajn (engl. *Quality by design*). Primijenjen je puni faktorijalni dizajn pri kojem su varirana dva procesna parametra (brzina dotoka uzorka, odnosno brzina rada pumpe i brzina protoka zraka kroz sustav - postavka aspiratora) na tri razine, dok su ulazna temperatura i tlak na sapnici bili konstantni. Odabrani parametri sušenja određeni su eksperimentalno i prikazani u Tablici 1.

Promatran je utjecaj procesnih parametara na krajnji rezultat postupka: iskorištenje, zatim veličinu čestica te sadržaj vlage u suhom produktu - alginatnim mikročesticama. Statistička analiza dobivenih podataka napravljena je korištenjem softwarea JMP 13 (SAS Institute, Cary, North Carolina, SAD, *trial* verzija). Dobivene su jednadžbe ovisnosti iskorištenja, veličine čestica i sadržaja vlage o variranim procesnim parametrima. Kao mjera poklapanja statističkog modela s dobivenim eksperimentalnim rezultatima uzet je R^2. To je koeficijent determinacije te je u ovom radu uzet kao mjera podudaranja regresijskog modela s eksperimentalno dobivenim rezultatima.

3.2.2. Priprava alginatnih mikročestica

Pripravljena je 0,5 % (*m*/*V*) otopina natrijevog alginata u pročišćenoj vodi. Sušenje raspršivanjem provedeno je pomoću uređaja za sušenje raspršivanjem Büchi 190 Mini Spray Dryer (Flawil, Švicarska), prikazanog na Slici 3. Promjer sapnice korištenog uređaja je 0,5 mm.



Slika 3. Uređaj za sušenje raspršivanjem Büchi 190 Mini Spray Dryer

Pripravljena otopina natrijevog alginata sušena je raspršivanjem pri konstantnoj ulaznoj temperaturi od 140°C i konstantnim protokom atomizirajućeg (komprimiranog) zraka koji je iznosio 700 Nl/h. Varirane su postavke rada peristaltičke pumpe (brzina dotoka raspršivanog uzorka) i aspiratora (brzina protoka medija za sušenje). Sušenje je rađeno pri brzini protoka uzorka od 2,12, 3,92 i 5,64 g/min, dok je aspirator radio na 25%, 50% i 75% kapaciteta (Tablica 1). Svaki od parametara promatran je na tri razine, pa je provedeno 3^2 odnosno 9 eksperimenata, u duplikatu.

Tablica 1. Prikaz variranih parametara sušenja raspršivanjem

ASPIRATOR / BRZINA DOTOKA UZORKA (g/min)	25%	50%	75%
2,12	Uzorak 1	Uzorak 2	Uzorak 3
3,92	Uzorak 4	Uzorak 5	Uzorak 6
5,64	Uzorak 7	Uzorak 8	Uzorak 9

3.2.3. Određivanje iskorištenja procesa

Iskorištenje procesa izračunato je kao omjer mase suhih alginatnih mikročestica, odnosno produkta, i početne mase natrijevog alginata otopljenog u pročišćenoj vodi, a izraženo je u obliku masenog postotka.

3.2.4. Određivanje veličine alginatnih mikročestica

Veličina čestica određena je mikroskopskom analizom slike korištenjem Olympus BH-2 mikroskopa spregnutog s kamerom (CCD kamera ICD-42-E, Ikegami Tsushinki Co., Japan) te računalnom obradom slike pomoću programa Optomax V (Cambridge, Velika Britanija). Prije analize, uzorak dobivenih čestica nanesen je u tankom sloju na predmetno stakalce. Najmanje 1500 čestica izmjereno je za svaki uzorak. Slika 4 prikazuje ekran na kojem se vide čestice u vidnom polju mikroskopa.



Slika 4. Prikaz čestica u vidnom polju mikroskopa

3.2.5. Određivanje morfologije alginatnih mikročestica

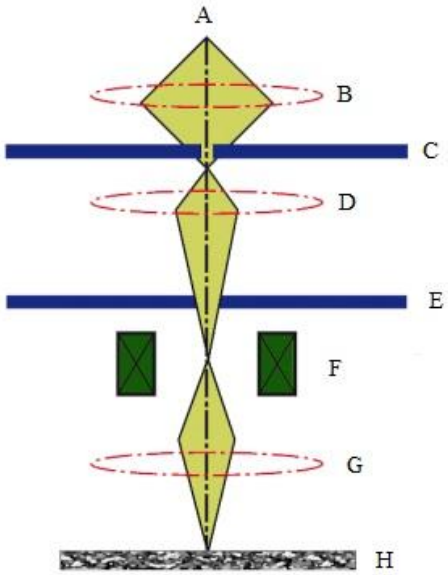
Morfologija mikročestica ispitana je metodom pretražne elektronske mikroskopije (eng. *Scanning electron microscopy*, SEM) pomoću uređaja Tescan Vega 3 SEM (Brno, Češka) (Slika 5) na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Uređaj ima mogućnost povećanja do 1 000 000 puta te je prikladan za proučavanje morfologije nanočestica.



Slika 5. Pretražni elektronski mikroskop

SEM je tehnika koja omogućuje trodimenzionalni prikaz površine čestice. Metoda funkcionira slično kao obrnuti svjetlosni mikroskop. Izvor elektrona nalazi se iznad uzorka, a zraka elektrona usmjerena je na njega pomoću niza leća. Slika nastaje na temelju raspršenja

elektromagnetskog zračenja. Uzorcima se može dodati neki vodljivi materijal da se smanji učinak površinskog naboja. Shema pretražnog elektronskog mikroskopa prikazana je na Slici 6. Zavojnice iznad leće objektiva reguliraju položaj zrake elektrona. Zbog interakcije elektrona i uzorka nastaju signali koji se onda detektiraju prikladnim detektorima (Ahuja i Scypinski, 2001).

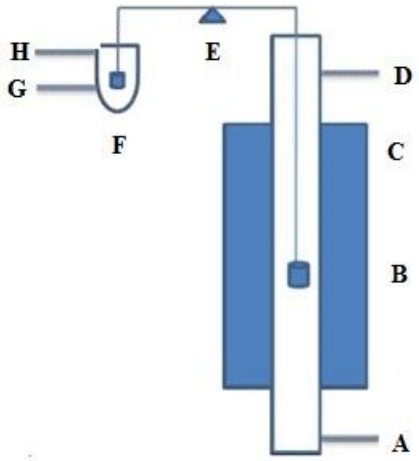


Slika 6. Shema pretražne elektronske mikroskopije (A - izvor elektrona, B, D – kondenzirajuće leće, C, E – apertura objektiva, F – skenirajuće (pretražne) zavojnice, G – leća objektiva, H – predmetno stakalce, odnosno uzorak) (prilagođeno prema www.nanoscience.com)

Prije analize morfologije čestica uzorak je pripremljen tako što je nanesen na vodljivu vrpcu i fiksiran na metalni nosač, koji je onda stavljen u komoru naparivača (eng. s*putter coater*) Quorum SC7620 u atmosferu inertnog plina. U komori mora biti tlak <10-2 mbara, što se postiže rotacijskom pumpom. Katoda izrađena od platine i rodija služi za oblaganje uzorka tim metalima. Elektrode se priključe na visoki napon (800 – 1200 V), nastalo električno polje ionizira argon, što uzrokuje da njegovi ioni udaraju u katodu i izbijaju atome platine i rodija koji oblažu promatrane mikročestice. Time uzorak postaje vodljiv te se može analizirati elektronskim mikroskopom.

3.2.6. Određivanje sadržaja vlage u alginatnim mikročesticama

Sadržaj vlage u gotovim uzorcima određen je termogravimetrijskom analizom koristeći uređaj TGA Q5000 (TA Instruments, New Castle, DE, SAD). Analiza je ostvarena u suradnji s industrijskim partnerom Pliva Hrvatska d.o.o. Navedena metoda bila je pogodna zbog mogućnosti određivanja sadržaja vlage u vrlo maloj masi uzorka (već od 1 mg). Termogravimetrijom se mjeri gubitak hlapljivih komponenti iz uzorka koji se grije ili hladi kontroliranom brzinom. Do promjene mase analita dolazi zbog fizikalnih procesa ili kemijskih reakcija (npr. isparavanje, razgradnja, oksidacija) kao rezultata promjene temperature (Ahuja i Scypinski, 2001). Instrument se sastoji od pećnice, termočlanka, nosača uzorka u kontroliranoj atmosferi i elektrovage (Slika 7). Uzorak se nalazio u atmosferi dušika kako bi se postigli inertni uvjeti.



Slika 7. Shema uređaja za termogravimetriju (A – ulaz plina u komoru s uzorkom, B – uzorak, C – pećnica, D – ispuh plina iz komore s uzorkom, E – elektrovaga, F – uteg, G – ulaz plina u komoru s utegom, H – ispuh plina iz komore s utegom) (prilagođeno prema Greers, 2013)

4. REZULTATI I RASPRAVA

Sušenje raspršivanjem tehnološki je postupak koji nalazi široku primjenu u razvoju lijekova. Optimiranjem pocesnih parametara moguće je pripraviti praškasti produkt kontroliranih svojstava čestica poput veličine, morfologije i gustoće, a u slučaju terapijskih sustava, i željenog profila oslobađanja uklopljenog lijeka. Velika prednost metode je što je prikladna i za sušenje termolabilnih tvari zbog hlađenja čestice uslijed isparavanja otapala (Jalšenjak i sur., 1998.; Singh i Van der Mooter, 2015).

Čest problem vezan uz oblikovanje lijekova postupcima sušenja je previsok sadržaj vlage zaostale nakon proizvodnog procesa (primjerice ako je sušena vodena otopina neke tvari). Javlja se i problem nakupljanja vlage prilikom skladištenja, pogotovo u slučaju higroskopnih produkata, kao što su mikročestice pripravljene sušenjem raspršivanjem vodene otopine polimera poput alginata. Vlaga, odnosno voda može utjecati na stabilnost suhog pripravka na različite načine pa je poželjno što više smanjiti sadržaj vlage u suhom produktu.

U ovom diplomskom radu cilj je bio istražiti utjecaj i interakcije dvaju procesnih parametara na svojstva alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem: proučavan je utjecaj brzine dotoka uzorka (vodene otopine natrijevog alginata) i protoka vrućeg zraka (medija za sušenje) kroz uređaj za sušenje raspršivanjem na: (i) iskorištenje procesa, (ii) veličinu dobivenih čestica i (iii) sadržaj vlage u produktu.

4.1. Dizajn eksperimenta

Da bi se odredile razine procesnih parametara uključenih u eksperimentalni dizajn, kao i nepromjenjive vrijednosti preostalih procesnih parametara (ulazne temperature medija za sušenje i protoka komprimiranog zraka kroz sapnicu), rađena su preliminarna sušenja. Cilj je bio utvrditi minimalne i maksimalne vrijednosti parametara pri kojima se dobiva produkt, a da sam proces nije prespor ili neisplativ. Prva sušenja provedena su pri radu aspiratora na 50% kapaciteta, ulaznoj temperaturi od 120, 148 i 165ºC, protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h, i dotoku uzorka od 3,92 g/min. Navedenim preliminarnim eksperimentima, za daljnje korake određivanja razina parametara, odabrana je ulazna temperatura od 120ºC.

U idućem koraku ispitivan je utjecaj brzine dotoka uzorka do sapnice, pri radu aspiratora na 50% kapaciteta, protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h i ulaznoj temperaturi od 120ºC, na izlaznu temperaturu medija za sušenje. Kao donja granica izlazne temperature postavljena je temperatura od 60°C. Brzina dotoka uzorka i odgovarajuća izlazna temperatura prikazane su u Tablici 2.

Tablica 2. Brzina dotoka uzorka i odgovarajuća izlazna temperatura u procesu sušenja raspršivanjem alginatne otopine (0,5 %, *m*/*V*), pri radu aspiratora na 50% kapaciteta, protoku zraka od 700 Nl/h i ulaznoj temperaturi od 120ºC

Brzina dotoka uzorka (g/min)	Izlazna temperatura (°C)
2,12	81
3,92	71
5,64	61

Uočeno je smanjenje izlazne temperature zraka s porastom brzine dotoka uzorka, što je u skladu s očekivanjima. Naime, pri većoj brzini dotoka uzorka, veći volumen otapala isparava s površine raspršenih kapljica u jediničnom vremenu, što rezultira većim padom temperature (i većom relativnom vlažnošću) medija za sušenje. Ipak, pri sve tri brzine dotoka uzorka, izlazna temperatura bila je veća od 60 ºC.

U idućem koraku ispitivan je utjecaj brzine protoka komprimiranog zraka, na efikasnost sušenja. Procesi sušenja raspršivanjem vođeni su pri najbržem dotoku uzorka (od 5,64 g/min), ulaznoj temperaturi od 120 °C, te pri radu aspiratora na 50% kapaciteta. Proučavane vrijednosti protoka komprimiranog zraka bile su 500 Nl/h, 600 Nl/h, 700 Nl/h i 800 Nl/h. Vrijednost od 500 Nl/h odbačena je zbog nedovoljno efikasnog procesa sušenja.

Zaključeno je da će se u okviru ovog rada procesi sušenja raspršivanjem voditi pri ulaznoj temperaturi od 140°C (srednja vrijednost ispitivanog raspona) i brzini protoka atomizirajućeg zraka od 700 Nl/h (srednja vrijednost raspona pri kojem je dobiven suhi produkt), te pri brzini dotoka uzorka od 2,12, 3,92 i 5,64 g/min i radu aspiratora na 25, 50 i 75% kapaciteta.

U Tablici 3. prikazani su parametri procesa sušenja raspršivanjem postavljeni eksperimentalnim dizajnom za svaki od devet različitih eksperimenata, te svojstva tako pripravljenih alginatnih mikročestica.

Tablica 3. Prikaz variranih parametara procesa sušenja raspršivanjem otopine natrijevog alginata (0,5%, *m*/*V*) i svojstava pripravljenih alginatnih mkročestica. Ulazna temperatura i tlak na sapnici bili su konstantni. Ulazna temperatura iznosila je 140^{0}C, a protok zraka za sušenje kroz sapnicu 700 Nl/h.

Uzorak	Intenzitet rada aspiratora (%)	Brzina protoka uzorka (g/min)	Izlazna temperatura (°C)	Iskorištenje (%)	Sadržaj vlage (%)	Srednji promjer čestica (µm)
Uzorak 1	25	2,12	84,50 ± 0,50	49,91 ± 0,46	10,15 ± 0,39	3,14 ± 0,17
Uzorak 2	50	2,12	89,00 ± 1,00	52,21 ± 0,55	11,51 ± 0,29	2,82 ± 0,13
Uzorak 3	75	2,12	96,25 ± 1,25	59,57 ± 1,94	9,75 ± 0,04	3,01 ± 0,08
Uzorak 4	25	3,92	74,25 ± 2,25	45,74 ± 1,32	10,50 ± 0,14	2,89 ± 0,09
Uzorak 5	50	3,92	82,25 ± 0,75	46,87 ± 2,10	10,90 ± 0,09	2,80 ± 0,04
Uzorak 6	75	3,92	90,00 ± 3,00	48,99 ± 0,65	10,50 ± 0,17	2,90 ± 0,05
Uzorak 7	25	5,64	72,50 ± 1,50	40,19 ± 1,28	10,55 ± 0,46	2,97 ± 0,18
Uzorak 8	50	5,64	79,00 ± 2,00	44,84 ± 1,17	10,35 ± 0,00	2,82 ± 0,02
Uzorak 9	75	5,64	80,50 ± 4,50	49,97 ± 0,35	10,30 ± 0,41	2,86 ± 0,06

Prikazane su srednje vrijednosti±standardna devijacija (n=2).

Dobiveni podaci analizirani su programom za statističku obradu podataka JMP kako bi se uspostavili regresijski modeli odnosa između procesnih parametara i odgovora sustava. Te jednadžbe prikazane su u Tablici 4.

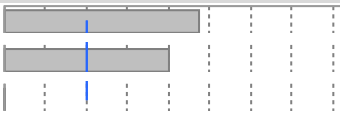
Tablica 4. Regresijski modeli odnosa između procesnih parametara i odgovora sustava

Regresijski modeli	R^2
Iskorištenje (%) = 51,00 – 2,5362 * brzina dotoka uzorka + 0,1513 * kapacitet aspiratora + [(brzina dotoka uzorka – 3,893) * 0,000097] * (kapacitet aspiratora -50)	0,8316 (1)
Srednji promjer (µm) = 3,1076 - 0,0301 * brzina dotoka uzorka - 0,0115 * kapacitet aspiratora + [(brzina dotoka uzorka – 3,8933) * -0,00014] * [(kapacitet aspiratora -50)	0,1299 (2)
Sadržaj vlage (%) = 10,79 - 0,0043 * kapacitet aspiratora – 0,019 * brzina dotoka uzorka* (kapacitet aspiratora – 50) * [(brzina dotoka uzorka – 3,893) * 0,00094]	0,0318 (3)

4.2. Iskorištenje procesa

Iskorištenja procesa varirala su između 40,19 i 59,57% (Tablica 3). Najveće iskorištenje postignuto je pri najvećoj postavci aspiratora (75%) i najsporijem dotoku uzorka (2,12 g/min), dok je najmanje iskorištenje postignuto upravo pri suprotnim uvjetima, dakle pri najvećoj brzini dotoka uzorka (5,64 g/min) i najmanjoj postavci aspiratora (25%). Iz rezultata statističke analize vidi se ovisnost iskorištenja o ovim parametrima. Iz vrijednosti R^2, koja iznosi 0,8316 (Tablica 4), vidljivo je da dobivena jednadžba dosta dobro opisuje odnose. Negativni koeficijent uz brzinu dotoka uzorka označava smanjenje iskorištenja uslijed povećanja brzine dotoka uzorka, dok pozitivni koeficijent uz kapacitet rada aspiratora označava povećanje iskorištenja uslijed povećanja kapaciteta rada aspiratora. Prema statističkoj analizi, i brzina dotoka uzorka i postavka rada aspiratora imali su značajan utjecaj na iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem (Slika 8). Takvi rezultati su i očekivani, jer ukoliko uzorak prebrzo dolazi do sapnice, on se raspršuje u veće kapljice, s obzirom da se ista energija raspršivanja troši na veći volumen uzorka u jediničnom vremenu. Također, veći je volumen otapala kojeg je potrebno osušiti u istom vremenu i pri istom protoku medija za sušenje. Pri takvim uvjetima sušenje je manje efikasno. Tonon i suradnici (2008) sušili su raspršivanjem otopinu akai praha te ispitivali utjecaj procesnih parametara na konačan produkt. Jednako kao i u ovom radu, zaključeno je da se iskorištenje procesa smanjuje povećanjem brzine dotoka uzorka, što je izravno povezano s transferom mase i topline. S druge strane, pri manjem kapacitetu rada aspiratora, smanjen je protok zraka kroz komoru za sušenje i smanjena je separacija čestica u ciklonu, što također rezultira smanjenim iskorištenjem (Singh i Van den Mooter, 2015).

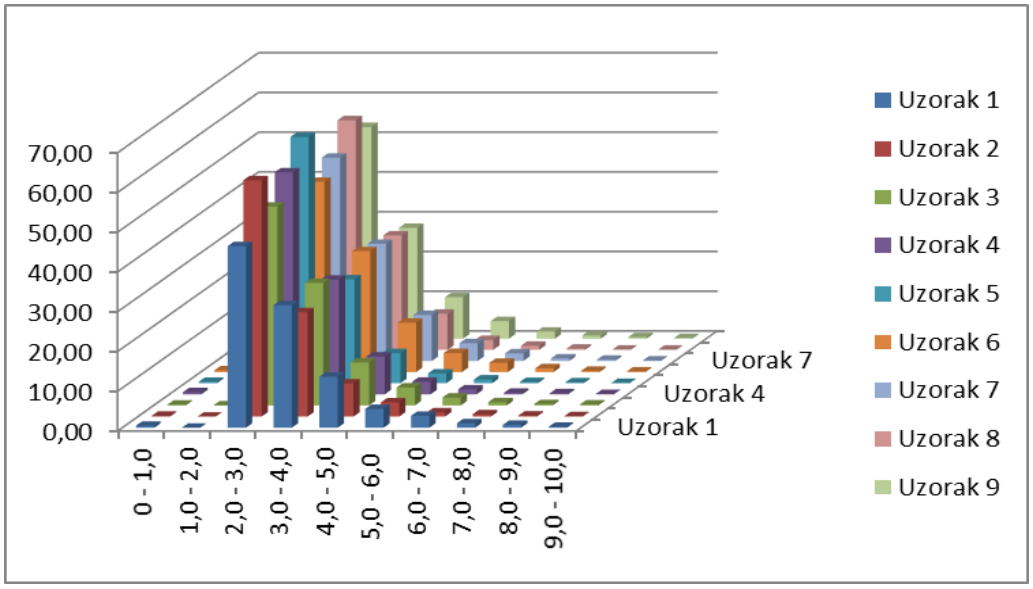
Source	LogWorth	PValue
Brzina dotoka uzorka (g/min)	4,740	0,00002
Kapacitet aspiratora (%)	4,010	0,00010
Kapacitet aspiratora (%)*Brzina dotoka uzorka (g/min)	0,002	0,99613



Slika 8. Signifikantnost utjecaja brzine dotoka uzorka, kapaciteta rada aspiratora i njihove kombinacije na iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem alginatne otopine (0,5 %, *m*/*V*). Okomita plava crta označava granicu signifikantnosti (P<0,01).

4.3. Veličina alginatnih mikročestica

Srednji promjer dobivenih čestica je u rasponu od 2,80±0,04 μm do 3,14±0,17 μm. Promjer čestica kretao se od 0,5 do 9,5 μm, a najviše čestica imalo je promjer između 2,0 i 4,0 μm (Slika 9), što okvirno odgovara literaturnim podacima.



Slika 9. Raspodjela veličina alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem pri različitim procesnim parametrima

Primjerice, Coppi i suradnici (2001) sušili su raspršivanjem 1%-tnu vodenu otopinu natrijevog alginata i goveđeg serumskog albumina (BSA) pomoću uređaja Büchi 190 Mini Spray Dryer. Uvjeti sušenja bili su sljedeći: ulazna temperatura 140°C, izlazna temperatura 60 – 65°C, brzina dotoka uzorka 5 ml/min, protok zraka 600 Nl/h, postavka aspiratora na 50% kapaciteta. Korištena je bifluidna sapnica promjera 0,5 mm. Promjer dobivenih čestica također je bio u rasponu od 0 do 10 μm, s tim da je najveći broj čestica imao promjer od 1 – 2 μm, dok je srednji promjer iznosio 1,72 ± 1,00 μm. Otopinu alginata koncentracije od 1% i goveđeg serumskog albumina koncentracije od 10% sušili su raspršivanjem Möbus i suradnici (2012) na uređaju Büchi 190 Mini Spray Dryer. Postavljeni su sljedeći uvjeti sušenja raspršivanjem: ulazna temperatura 140 – 145°C, brzina dotoka uzorka 5 – 7 g/min, protok atomizirajućeg zraka 600-650 Nl/h, tlak aspiratora 50 mbar, izlazna temperatura 70 – 80°C. Srednji promjer čestica iznosio je 2,8 ± 2,3 μm. Ti rezultati poklapaju se s promjerima čestica dobivenim u ovom radu.

Statističkom analizom nije utvrđena međuovisnost ispitivanih procesnih parametara i veličine čestica (Tablica 4, jednadžba 2). Statistička analiza prikupljenih podataka rezultirala je regresijskim modelom odnosa između ispitivanih procesnih parametara i veličine čestica s vrijednošću R^2 = 0,1299 (Tablica 4) te vrlo malim koeficijentima u jednadžbi koji pokazuju insignifikantan utjecaj promatranih parametara na srednji promjer alginatnih mikročestica (Slika 10). Ovaj rezultat iznenađuje jer je za očekivati da će i brzina dotoka uzorka te brzina

protoka zraka, odnosno postavka aspiratora, utjecati na veličinu čestica. Naime, kod većeg kapaciteta rada aspiratora, veći je protok zraka za sušenje, što rezultira većom centifugalnom silom u ciklonu i boljom separacijom manjih čestica iz struje plina za sušenje, što bi trebalo utjecati na dobivenu raspodjelu veličina čestica. S druge strane, što je brzina dotoka uzorka veća, veće su kapljice koje ulaze u komoru za sušenje te se sušenjem dobiju veće čestice. Chawla i suradnici (1994) pokazali su da interakcija između postavke aspiratora i koncentracije otopine utječe na veličinu čestica. U navedenom istraživanju sušena je otopina salbutamol sulfata korištenjem uređaja Büchi 190 Mini Spray Dryer promjera sapnice od 7 mm. Cilj je bio dobiti čestice pogodne za dostavu u pluća putem inhalacije. Dobivene čestice imale su promjer između 4,4 i 4,7 μm (<5 μm), što je prikladno za pulmonalnu primjenu. Primijećeno je da najveće čestice promjera 4,7 μm nastaju pri punom radnom kapacitetu aspiratora, uz sušenje otopine najveće koncentracije.

Source	LogWorth	PValue
Brzina protoka uzorka (g/min)	0,579	0,26355
Kapacitet aspiratora (%)	0,387	0,41022
Kapacitet aspiratora (%)*Brzina protoka uzorka (g/min)	0,040	0,91288

Slika 10. Signifikantnost utjecaja brzine dotoka uzorka, kapaciteta rada aspiratora i njihove kombinacije na srednji promjer alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem otopine alginata (0,5 %, *m*/*V*). Okomita plava crta označava granicu signifikantnosti (P<0,01).

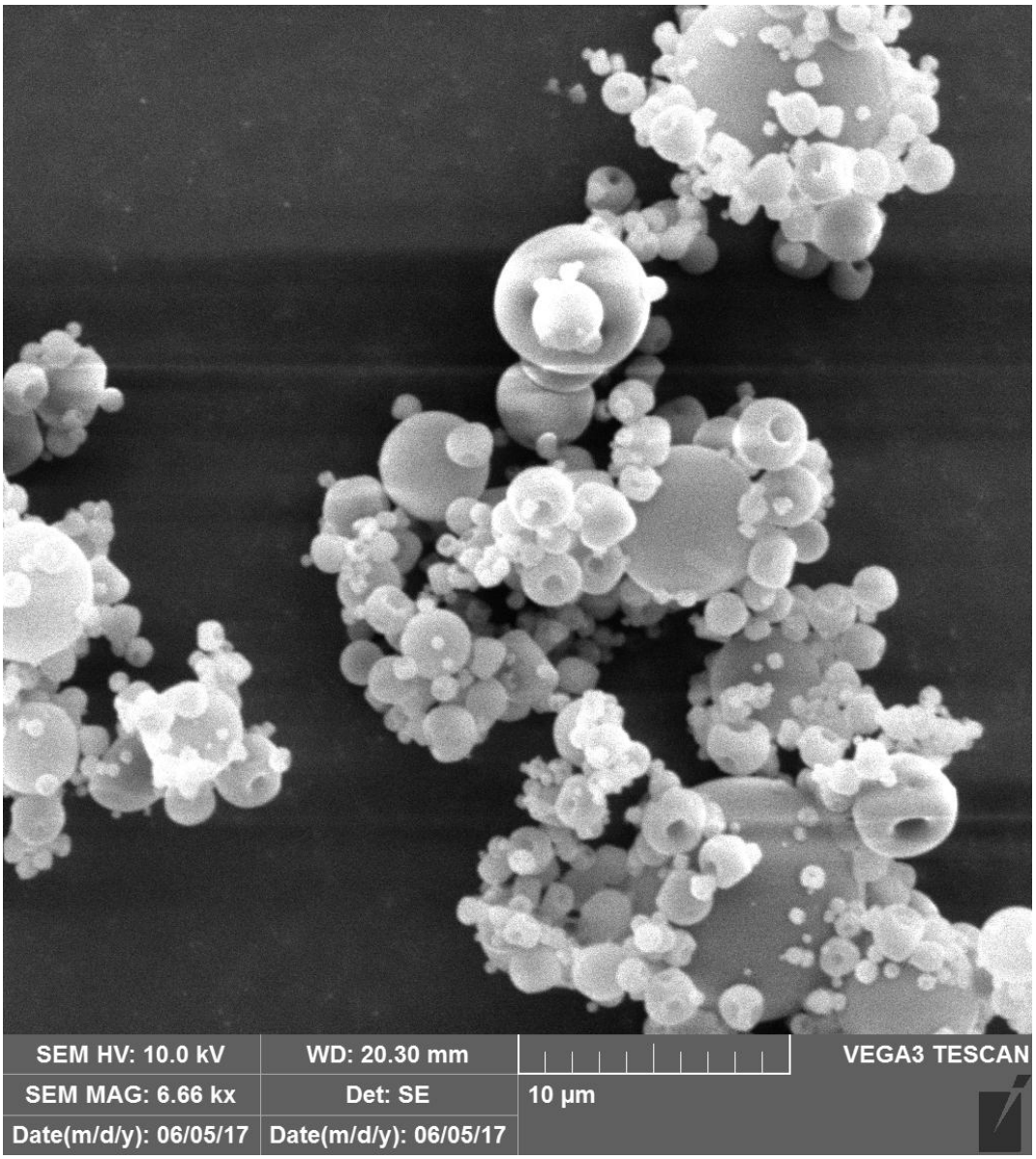
Zanimljiva je činjenica da prema raspodjeli veličina čestica, nema čestica promjera u rasponu od 1,0 do 2,0 μm (Slika 9). Međutim, kada se promatraju SEM mikorgrafije odabranog uzorka, vidi se da takvih čestica ustvari ima u uzorku, ali su adsorbirane na površinu većih čestica (Slika 11 i 12). Moguće je da je korelacija promatranih procesnih parametara i veličine izostala zato što odabranom metodom nije bilo moguće detektirati i izmjeriti najmanje čestice te tako u potpunosti ispitati utjecaj promatranih parametara na proces sušenja. Jednak zaključak donesen je i u slučaju ispitivanja utjecaja utjecaja ulazne temperature i protoka komprimiranog zraka na veličinu alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem (Svetec, 2017).

4.4. Morfologija alginatnih mikročestica

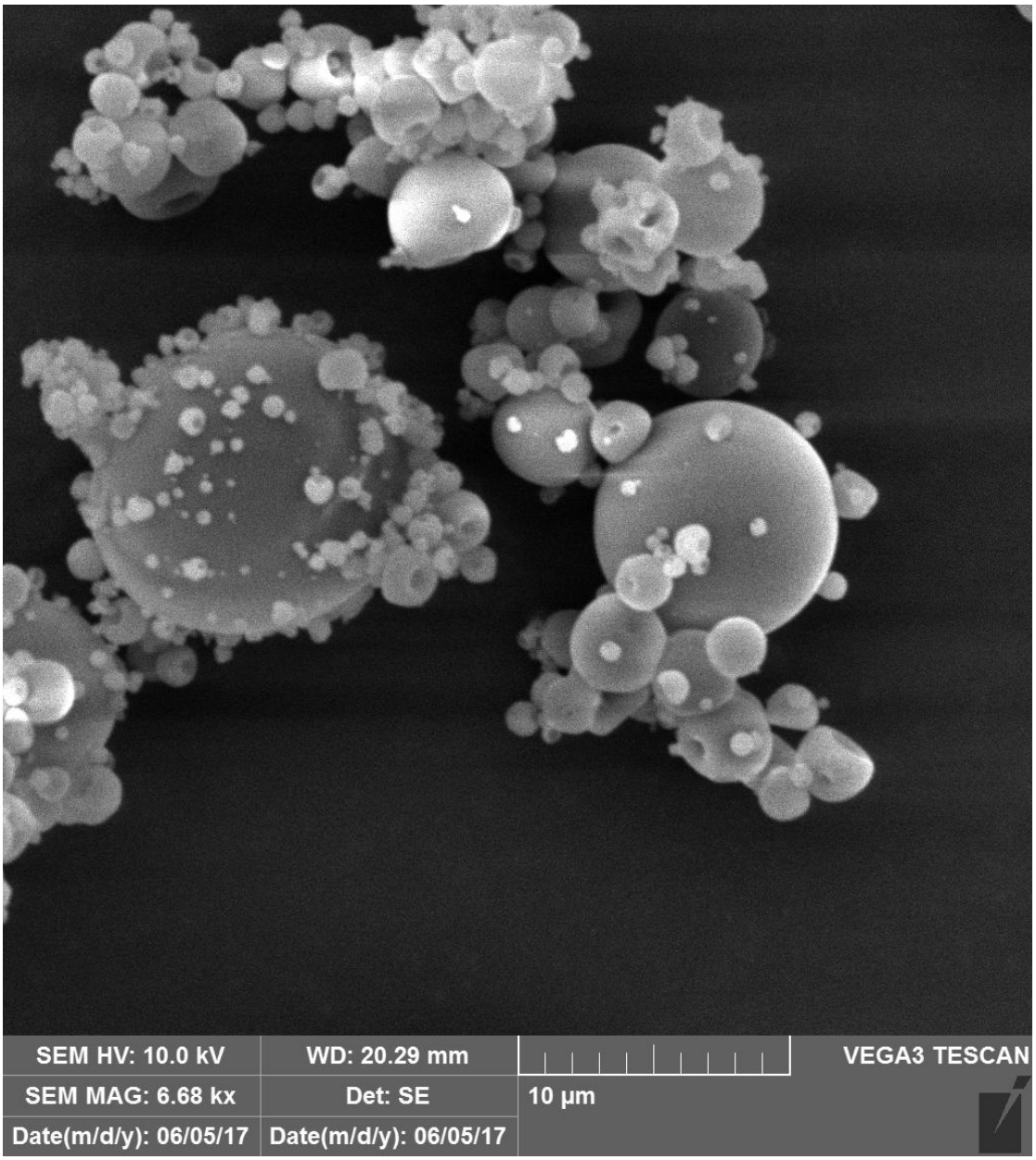
Za razvoj novog terapijskog sustava, morfologija čestica od iznimnog je značaja. Oblik čestica važno je svojstvo koje utječe na reološka svojstva praška, ali i ponašanje

terapijskog sustava nakon primjene (Geng i sur., 2007). Na Slikama 11 i 12 prikazane su SEM mikrografije alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem pri brzini dotoka uzorka od 3,92 g/min i pri radu aspiratora na 25% kapaciteta. Većina čestica je pravilnog (sferičnog) oblika te glatke površine. Čestice su neporozne. Određeni broj čestica ima udubine u sferičnoj površini te nalikuju na klobuk gljive (engl. *mushroom shaped particles*). Slična morfologija čestica zabilježena je i u diplomskom radu Svetec (2017) u kojem je proučavan utjecaj ulazne temperature sušenja i protoka komprimiranog zraka na svojstva alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem.

Uvrnuća na površini mikročestica javljaju se kod sušenja raspršivanjem polimernih otopina kod kojih je brzina isparavanja otapala veća od difuzije otopljenog polimera prema jezgri kapljice (Pecletov broj je veći od 1). Naime, površina čestice prva dolazi u kontakt sa zagrijanim zrakom uslijed čega s površine kapljice isparava otapalo i povećava se koncentracija otopljene tvari na površini kapljice. Stvara se koncentracijski gradijent koji uzrokuje difuziju otopljene tvari prema području manje koncentracije, odnosno središnjem dijelu kapljice. Polimeri zahvaljujući velikoj molekulskoj masi sporo difundiraju, a posljedica toga je formiranje čvrste ovojnice na površini raspršene kapljice. Ovisno o debljini i fleksibilnosti ovojnice, moguće je očekivati različite deformacije površine čestica u daljnjem procesu sušenja (Vehring, 2008). Iskandar i suradnici (2003) u svom istraživanju nanostrukturiranih čestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem kao mogući razlog nastanka „klobučastih“ čestica navode gubitak strukturne stabilnosti kapljice u dvofaznom području protoka zraka zbog dodatnih makro- i mikrohidrodinamičkih efekata tijekom procesa sušenja.

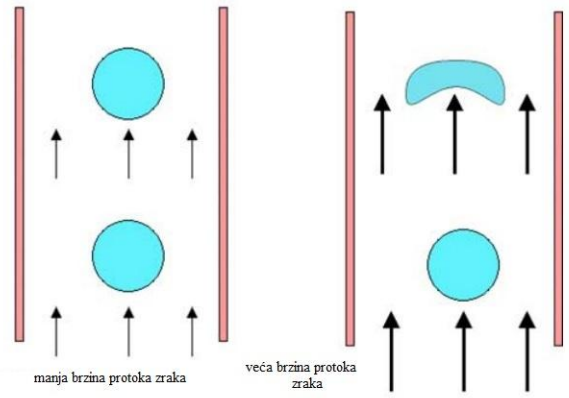


Slika 11. SEM mikrografija alginatnih mikročestica (povećanje 6660 ×) pripravljenih sušenjem raspršivanjem otopine natrijevog alginata (0,5 %, *m*/*V*) pri brzini dotoka uzorka od 3,92 g/min, radu aspiratora na 25% kapaciteta, ulaznoj temperaturi sušenja 140 °C i protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h.



Slika 12. SEM mikrografija alginatnih mikročestica (povećanje 6680 ×) pripravljenih sušenjem raspršivanjem otopine natrijevog alginata (0,5 %, *m*/*V*) pri brzini dotoka uzorka od 3,92 g/min, radu aspiratora na 25% kapaciteta, ulaznoj temperaturi sušenja 140°C i protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h.

I Nandiyanto i Okuyama (2011) proučavali su utjecaje raznih čimbenika na veličinu i morfologiju čestica dobivenih sušenjem raspršivanjem te su došli do sličnih zaključaka. Hidrodinamički učinci imaju važnu ulogu u regulaciji morfologije čestica. Brzina protoka plina za sušenje i temperatura sušenja najviše utječu na konačan oblik i strukturu čestice. Povećanje brzine protoka zraka uzrokuje destabilizaciju oblika kapljice (Slika 13). Smanjenje vremena koje čestica provede u cilindru odnosno komori za sušenje treba kompenzirati povišenjem ulazne temperature kako bi se dobila potpuno suha čestica.



Slika 13. Učinak brzine protoka zraka na stabilnost kapljica (prilagođeno prema Iskandar i sur., 2003)

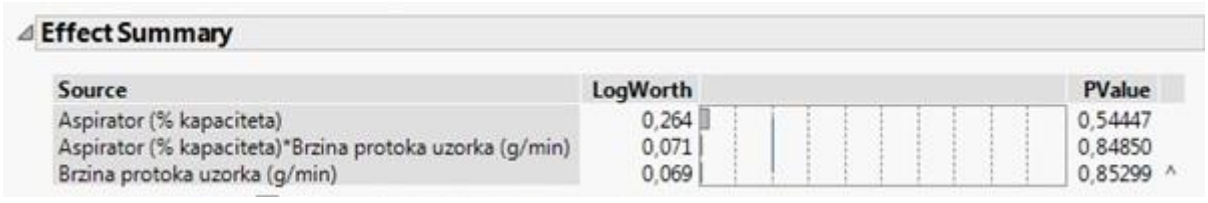
Sferične čestice nastat će u uvjetima sušenja pri kojima su kapljice male, a molekule otopljenih tvari unutar kapljice jako male ili jako velike. S druge strane, prstenaste odnosno toroidne čestice mogu se proizvesti ukoliko je sušena kapljica velika, pri visokoj temperaturi i velikoj brzini protoka zraka, uz dodatak surfaktanta. Ceschan i suradnici u radu iz 2014. godine sušili su raspršivanjem otopinu alginata i beta-blokatora atenolola u raznim omjerima. Morfologija sušenih čestica također je proučavana pretražnom elektronskom mikroskopijom. Čvrste čestice ishodnog polimera natrijevog alginata bile su nepravilne s grubim i poroznim površinama. Nakon sušenja raspršivanjem 1%-tne vodene otopine natrijevog alginata nastale su toroidne čestice, a bilo je i izduženih čestica nalik na vlakna (engl. *fiber type particles*).

4.5. Sadržaj vlage u alginatnim mikročesticama

Izmjeren sadržaj vlage kretao se između 9,75±0,04 i 11,51±0,29%, te je općenito relativno velik. Primjerice, Takeuchi i suradnici (1998) koristili su rotirajući atomizirajući uređaj za sušenje raspršivanjem otopine natrijevog alginata i laktoze pri brzini dotoka otopine od 50 ml/min, ulaznoj temperaturi 175 °C i izlaznoj temperaturi 100 °C. Sadržaj vlage određen je metodom po Karl-Fischeru. Prosječan promjer čestica iznosio je od 15,3 do 16,4 μm, ovisno o omjeru alginata i laktoze. Sadržaj vlage bio je 4,52 ± 0,16% za prvi (9:1), 4,90 ± 0,06% za drugi (8:2) i 5.02 ± 0.17% za treći uzorak (7:3), što je dvostruko manje od izmjerenog sadržaja vlage u ovom radu. U radu Ceschana i suradnika (2014) sušena je otopina natrijevog alginata i beta-blokatora atenolola u raznim omjerima. Korišten je uređaj za sušenje raspršivanjem Büchi B-290 Mini Spray Dryer s bifluidnom sapnicom promjera 0,5 mm. Ulazna temperatura iznosila je 140 °C, brzina protoka komprimiranog zraka 601 l/h, a brzina dotoka uzorka 6 ml/min. Iskorištenja su bila relativno velika, između 45,84 i 72,70%. Sadržaj vlage bio je između 3,43 i 5,32 %, što pokazuje da je sušenje bilo učinkovito. Sušenje

raspršivanjem 1%-tne vodene otopine natrijevog alginata (bez dodatka atenolola) rezultiralo je mikročesticama s najvećim sadržajem vlage, (7,24%), zbog higroskopnosti korištenog polimera. Ista istraživačka skupina provela je sušenje raspršivanjem otopine natrijevog alginata i atenolola, te otopine natrijevog alginata, atenolola i kalija, pri čemu je koncentracija natrijevog alginata bila 1%. Sušenje raspršivanjem je provedeno uređajem Büchi B-290 Mini Spray Dryer s bifluidnom sapnicom promjera 0,5 mm pri ulaznoj temperaturi od 140°C, brzini dotoka uzorka od 6 ml/min, protoku komprimiranog zraka 742 l/h. Oba uzorka razdvajana u standardnom ciklonu imali su sadržaj vlage ispod 5% (3,95 ± 0,14% i 2,97 ± 1,10%), što govori da je proces sušenja bio uspješan. Iako su uvjeti sušenja usporedivi, sadržaj ostatne vlage bio je i više nego dvostruko manji nego sadržaj vlage u alginatnim mikročesticama ispitivanima u ovom radu.

Statističkom obradom rezultata nije utvrđen utjecaj promatranih parametara na sadržaj vlage u suhom uzorku. Dobiven je regresijski model s R^2 koji iznosi 0,0318 (Tablica 4), te sa vrlo malim koeficijentima u jednadžbi koji pokazuju insignifikantan utjecaj promatranih parametara na sadržaj vlage alginatnih mikročestica (Slika 14). U teoriji, oba promatrana parametra trebala bi imati utjecaj na ostatnu vlagu u produktu. Naime, pri većoj brzini dotoka uzorka zabilježena je niža izlazna temperatura (Tablica 2), što bi, u usporedbi s procesima sušenja vođenim pri jednakim ostalim parametrima sušenja, trebalo rezultirati smanjenjem kapaciteta sušenja, odnosno većim sadržajem vlage (Stähl i sur., 2002). Nadalje, postavka rada aspiratora, odnosno brzina protoka medija za sušenje također bi trebala utjecati na sadržaj vlage, jer pri većem kapacitetu rada aspiratora, čestice kraće vremena provedu u komori za sušenje te imaju veći sadržaj vlage (Singh i Van der Mooter, 2015).



Slika 14. Signifikantnost utjecaja brzine dotoka uzorka, kapaciteta rada aspiratora i njihove kombinacije na iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem alginatne otopine (0,5 %, *m*/*V*). Okomita plava crta označava granicu signifikantnosti $P<0,01$).

S obzirom da u ovom radu nije utvrđen utjecaj procesnih parametara na sadržaj vlage u produktu, a isto tako i da je sadržaj vlage relativno velik u usporedbi sa sadržajem vlage u alginatnim mikročesticama pripravljenim sušenjem raspršivanjem pri usporedivim procesnim

uvjetima (Takeuchi i sur., 1998, Ceschan i sur. 2014), pretpostavka je da je vlaga određena termogravimetrijom adsorbirana na alginatne mikročestice nakon procesa sušenja raspršivanjem (prilikom njihovog sakupljanja iz prihvatne posudice pri ambijentalnim uvjetima), a kao posljedica njihove higroskopnosti. Ta pretpostavka u skladu je sa zaključcima donesenim pri ispitivanju utjecaja protoka komprimiranog zraka i ulazne temperature na sadržaj vlage alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem koji se kretao u rasponu od 10,13 do 11,63%. (Svetec, 2017).

Problematikom nakupljanja vlage u osušenom produktu bavila se Lusina Kregar (2016) u okviru doktorske disertacije usmjerene na razvoj *in vitro* metode za ispitivanje oslobađanja djelatne tvari iz polimernih mikročestica za topikalnu primjenu. U tom istraživanju pripravljene su kitozanske mikročestice s mupirocinom sušenjem iz smjese vode i metanola. Provedeni su razni eksperimenti s ciljem smanjenja sadržaja vode u česticama. Variranje ulazne temperature u rasponu od 110-140°C te variranje brzine dotoka uzorka (postavka peristaltičke pumpe u rasponu od 20-30%) nije imalo značajnog utjecaja na količinu vlage u produktu. Sadržaj vlage u kitozanskim mikročesticama s antimikrobnim lijekom mupirocinom kretao se od 6,1 do 6,9%. S ciljem daljnjeg smanjenja udjela vlage, ispitan je utjecaj sekundarnog sušenja. Mikročestice su nakon izrade dodatno sušene 24 sata u vakuum sušnici pri temperaturi od 30°C i tlaku od 10 mbar. Usprkos tome, postotak vode u česticama izmjeren termogravimetrijskom analizom nakon ponovnog sušenja bio je vrlo sličan onome prije sekundarnog sušenja. Zatim je provedena izotermna termogravimetrijska analiza pri 30°C u trajanju od 24 sata. U tom procesu skoro sva voda iz uzorka je uklonjena, no nakon ponovnog izlaganja mikročestica okolišnim uvjetima dolazi do adsorpcije atmosferske vlage. Iz svega navedenog može se zaključiti da sadržaj vlage u česticama, osim o parametrima sušenja, ovisi i o sastavu čestica, higroskopnosti sušenih tvari i uvjetima prikupljanja i skladištenja uzorka.

5. ZAKLJUČCI

- Alginatne mikročestice uspješno su priravljene metodom sušenja raspršivanjem pri različitim brzinama dotoka uzorka (2,12 do 5,64 g/min) i postavkama aspiratora, odnosno protoka medija za sušenje (25 do 75% kapaciteta aspiratora) te pri konstantnim postavkama ulazne temperature (140°C) i protoka komprimiranog zraka (700 Nl/h) kroz sapnicu promjera 0,5 mm.

- Iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem kretalo se u rasponu od 40,19 do 59,57%. Uočen je značajan utjecaj variranih parametara na iskorištenje procesa: povećanje brzine protoka uzorka rezultiralo je smanjenem iskorištenja procesa, dok je povećanje kapaciteta aspiratora uzrokovalo veće iskorištenje procesa.

- Srednji promjer alginatnih mikročestica, utvrđen mikroskopskom analizom slike, kretao se u rasponu od 2,80±0,04 μm do 3,14±0,17 μm. Navedenom metodom nije bilo moguće precizno odrediti veličinu čestica zbog adhezije manjih čestica na veće te zbog aglomeriranja čestica.

- Većina alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem pri brzini dotoka uzorka 3,92 g/min i pri radu aspriratora na 25% kapaciteta, pravilnog (sferičnog) su oblika, neporozne i glatke površine. Neke čestice imaju uvrnutu površinu te nalikuju na klobuk gljive.

- Sadržaj vlage alginatnih mikročestica kreće se u rasponu od 9,75 do 11,51 %. Nije uočena ovisnost sadržaja vlage alginatnih mikročestica o brzini dotoka uzorka ni o brzini protoka medija za sušenje. Relativno velik sadržaj vlage u mikročesticama objašnjen je adsorpcijom atmosferske vlage na higroskopne alginatne mikročestice nakon procesa sušenja raspršivanjem.

6. LITERATURA

Ahlneck C, Zografi G. The molecular basis of moisture effects on the physical and chemical stability of drugs in the solid state, Int J Pharm, 1990, 87-95

Aso Y, Yoshioka S, Kojima S. Relationship between the crystallization rates of amorphous nifedipine, phenobarbital, and flopropione, and their molecular mobility as measured by their enthalpy relaxation and 1H NMR relaxation times. J Pharm Sci, 2000, 408-416

Balakrishnana B, Mohantyb M, Umashankarc PR, Jayakrishnana A. Evaluation of an in situ forming hydrogel wound dressing based on oxidized alginate and gelatin. Biomat, 2005, 6335-6342

Bhugra C, Pikal MJ. Role of thermodynamic, molecular, and kinetic factors in crystallization from the amorphous state. J Pharm Sci, 2008, 1329-1349

Bögelein J, Lee G. Cyclone selection influences protein damage during drying in a mini spray-dryer, Int J Pharm, 2010, 68-71

Britain HG, Solid state analysis. U Handbook of modern pharmaceutical analysis. Ahuja S, Scypinski S, urednici, San Diego, Academic Press, 2001, str. 57-81

Broadhead J, Rouan Sk, Hau I, Rhodes CT. The effect of process and formulation variables on the properties of spray-dried beta-galactosidase. J Pharm Pharmacol, 1994, 46(6):458-67

Ceschan NE, Bucala V, Ramirez-Tigo MV. New alginic acid-atenolol microparticles for inhalatory drug targeting, Materials Science & Engineering C, 2014

Chan S, Toh S, Khan NH, Chung Y & Cheah X. The improved dissolution performance of a post processing treated spray-dried crystalline solid dispersion of poorly soluble drugs, Drug Dev Ind Pharm, 2016, 1800-1812

Chawla A, Taylor KMG, Newton JM, Johnson MCR. Production of spray dried salbutamol sulphate for use in dry powder aerosol formulation, Int J Pharm, 1994, 233-240

Chiou D, Langrish TAG. The effect of temperature on the crystallinity of lactose powders produced by spray drying. J Food Eng, 2008, 288-293

Coppi G, Iannunccelli V, Leo E, Bernabei MT, Cameroni R, Chitosan-alginate microparticles as a protein carrier, Drug Devel Ind Pharm, 2001, 27(5), 393-400

Depreter F, Amighi K. Formulation and in vitro evaluation of highly dispersive insulin dry powder formulations for lung administration. Eu J Pharm Biopharm, 2010, 454-463

Ebrahimi A, Saffari M, Langrish T. Improving the dissolution rate of hydrophobic drugs through encapsulation in porous lactose as a new biocompatible porous carrier, Int J Pharm, 2017

Greers C. Inhibition of coking and metal dusting on conventional alloys by using a nickel-tin intermetallic coating, http://www.researchgate.net, 2013

Hancock BC, Zografi G. The relationship between the glass transition temperature and the water content of amorphous pharmaceutical solids. Pharm Res, 1994, 11: 471

He Y, Ho C. Amorphous Solid Dispersions: Utilization and Challenges in Drug Discovery and Development, J Pharm Sci, 2015, 104:3237–3258

Hollander PA. Evolution of a Pulmonary Insulin Delivery System (Exubera) for Patients With Diabetes, Med Gen Med, 2007

How a SEM works, http://www.nanoscience.com, pristupljeno 15.5.2017.

Hsu CC, Wu SS, Walsh AJ. . The preparation of recombinant human deoxyribonuclease powder: Comparative studies of spray drying versus lyophilization and application of microwave drying. IDS'96, 1996, 1229-1236

Iskandar F, Gradon L, Okuyama K. Control of the morphology of nanostructured particles prepared by the spray drying of a nanoparticle sol. J Col Int Sci, 2003, 296-303

Jalšenjak I, Jalšenjak V, Filipović-Grčić J. Farmaceutika. Zagreb, Školska knjiga, 1998, str. 20

Kanojia G, Willems GJ, Frijlink HW, Kersten GF, Soema PC, Amorij JP. A Design of Experiment approach to predict product and process parameters for a spray dried influenza vaccine. Int J Pharm, 2016, 511(2):1098-111

Keegan MJ, Randall G, Bernstein H, Straub J, Chickering D. 2001. U.S. Patent 6,308,434.

Kwiatek MA, Roman S, Fareeduddin A, Pandolfino JE, Kahrilas PJ. An alginate-antacid formulation (Gaviscon Double Action Liquid) can eliminate or displace the postprandial ‘acid pocket’ in symptomatic GERD patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 59–66

Lusina Kregar M, Razvoj in vitro metode za ispitivanje oslobađanja djelatnih tvari iz polimernih mikročestica za topičku primjenu, doktorska disertacija, 2016

Maa Y-F, Nguyen P-A, Andya JD, Dasovich N, Sweeney TD, Shire SJ, Hsu CC. Effect of spray drying and subsequent processing conditions on residual moisture content and physical/biochemical stability of protein inhalation powders. Pharm Res, 1998, 15, 768-774

Makai Z, Bajdik J, Eros I, Pintye-Hodi K. Evaluation of the effects of lactose on the surface properties of alginate coated trandolapril particles prepared by a spray-drying method. Carbohydr Pol, 2008, 712-716

Maniello MD, Del Gaudio P, Augino RP, Russo P. Clarithromycin and N-acetylcysteine co-spray-dried powders for pulmonary drug delivery: A focus on drug solubility, Int J Pharm, 2017

Marsac, PJ, Konno H, Rumondor, ACF. Recrystallization of Nifedipine and Felodipine from Amorphous Molecular Level Solid Dispersions Containing Poly(vinylpyrrolidone) and Sorbed Water. Pharm Res, 2008, 647-656

Martins RM, Siqueira S, Tacon LA, Freitas LAP. Microstructured ternary solid dispersions to improve carbamazepine solubility. Powd Tech, 2011, 156-165

Meng J1, Agrahari V1, Ezoulin MJ1, Purohit SS2, Zhang T1, Molteni A3, Dim D3, Oyler NA2, Youan BC. Spray-Dried Thiolated Chitosan-Coated Sodium Alginate Multilayer Microparticles for Vaginal HIV Microbicide Delivery. AAPS J, 2017, (3): 692-702

Möbus K, Siepmann J, Bodmeier R, Zinc–alginate microparticles for controlled pulmonary delivery of proteins prepared by spray-drying. Eu J Pharm Biopharm, 2012, 121-130

Nallamuthu NA, Braden M., Patel MP. Some aspects of the formulation of alginate dental impression materials—Setting characteristics and mechanical properties. Dent Mat, 2012, 756-762

Nandiyanto ABD, Okuyama K. Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: From the nanometer to submicrometer size ranges, Adv Powd Tech, 2011, 1-19

O'Donoghue JM , O'Sullivan ST , Beausang ES , Panchal JI , O'Shaughnessy M , O'Connor TP . Calcium alginate dressings promote healing of split skin graft donor sites. Act Chirurg Plast, 1997, 39(2):53-55

Ohtake S, Shalaev E, Effect of Water on the Chemical Stability of Amorphous Pharmaceuticals: I. Small Molecules, J Pharm Sci, 2012

Paul W, Sharma CP. Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review, Trends Biomater Artif Organs, 2004, Vol 18 (1), 18-23

Product Specification Bulletin (FMC BioPolymer)

Sahoo NG, Abbas A, Judeh Z, Li CM, Yuen K-H. Solubility enhancement of a poorly water-soluble anti-malarial drug: Experimental design and use of a modified multifluid nozzle pilot spray drier. J Pharm Sci, 2008, 281-296

Saralkar P, Dash AK. Alginate Nanoparticles Containing Curcumin and Resveratrol: Preparation, Characterization, and In Vitro Evaluation Against DU145 Prostate Cancer Cell Line. Pharm Sci Tech, 2017

Silva AS, Sousa AM, Cabral RP, Silva MC, Costa C, Miguel SP, Bonifácio VD, Casimiro T, Correia IJ, Aguiar-Ricardo A. Aerosolizable gold nano-in-micro dry powder formulations for theragnosis and lung delivery, Int J Pharm, 2017

Singh A, Van den Mooter G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions, Adv Drug Deliv Rev, 2015

Solohub K, Cal K. Spray drying technique: II. Current applications in pharmaceutical technology, J Pharm Sci, 2009

Sosnik A, Seremeta KP. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. Adv Col Inter Sci, 2015, 40-54

Spray-dried lactose, http://www.dfepharma.com, pristupljeno 15.5.2017.

Stahl K, Claesson M, Lilliehorn P, Linden H, Backstrom K. The effect of process variables on the degradation and physical properties of spray dried insulin intended for inhalation. Int J Pharm, 1994, 233: 227–237

Stähl K, Claesson M, Lilliehorn P, Linden H, Backstrom K. The effect of process variables on the degradation and physical properties of spray dried insulin intended for inhalation. Int J Pharm, 2002, 227-237

Sun S1, Liang N2, Gong X3, An W4, Kawashima Y5, Cui F6, Yan P7. Multifunctional Composite Microcapsules for Oral Delivery of Insulin. Int J Mol Sci, 2016

Svetec M, Utjecaj protoka komprimiranog zraka i ulazne temperature na svojstva alginatnih mikročestica pripravljenih sušenjem raspršivanjem, diplomski rad, 2017

Takeuchi H, Yasuji T, Hino T, Yamamoto H, Kawashima Y. Spray-dried composite particles of lactose and sodium alginate for direct tabletting and controlled releasing. Int J Pharm, 1998, 91-100

Tian B, Zhang L, Pan Z, Gou J, Zhang Y, Tang x. A comparison of the effect of temperature and moisture on the solid dispersions: Aging and crystallization, Int J Pharm, 2014, 385-392

Tønnesen HH, Karlsen J. Alginate in Drug Delivery Systems. J Drug Devel Ind Pharm 2002, 621-630

Tonon RV, Brabet C, Hubinger MD. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (Euterpe oleraceae Mart.) powder produced by spray drying. J Food Eng, 2008, 411-418

Torsdottir I , Alpsten M , Holm G , Sandberg AS , Tölli J . A small dose of soluble alginate-fiber affects postprandial glycemia and gastric emptying in humans with diabetes. J Nutr, 1991, 121(6):795-799

Vehring R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying, Pharm Res, 2008

Water structure and science, http://www1.lsbu.ac.uk, pristupljeno 5.3.2017.

Wong Y, Sampson S, Germishiuzen WA, Goonesekera S, Caponetti G, Sadoff J, Bloom BR, Edwards D, Drying a tuberculosis vaccine without freezing, PNAS, 2007

Yang J, Grey K, Doney J. An improved kinetics approach to describe the physical stability of amorphous solid dispersions. Int J Pharm, 2010, 24-31

7. SAŽETAK

Sušenje raspršivanjem tehnološki je postupak koji nalazi široku primjenu u razvoju lijekova. Optimiranjem procesnih parametara moguće je pripraviti praškasti produkt kontroliranih svojstava čestica. Postupak je uvelike primjenjiv u razvoju inovativnih terapijskih sustava željenog profila oslobađanja uklopljenog lijeka. Česti problemi vezani uz oblikovanje lijekova postupcima sušenja su previsok sadržaj vlage zaostale nakon proizvodnog procesa te problem nakupljanja vlage prilikom skladištenja, pogotovo u slučaju izrazito higroskopnih produkata.

Cilj ovog rada bio je pripraviti alginatne mikročestice metodom sušenja raspršivanjem te ispitati utjecaj brzine dotoka uzorka i protoka medija za sušenje (kroz postavku rada aspiratora) na iskorištenje procesa, veličinu čestica i sadržaj ostatne vlage u produktu. Korišten je puni faktorijalni dizajn eksperimenta sa tri razine procesnih parametara (brzina dotoka uzorka od 2,12, 3,92 i 5,64 g/min te postavka rada aspiratora na 25, 50 i 75 % kapaciteta). Otopina natrijevog alginata (0,5 %, *m*/*V*) sušena je raspršivanjem pri ulaznoj temperaturi od 140°C i protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h korištenjem uređaja s bifluidom sapnicom. Veličina čestica određena je mikroskopskom analizom slike. Sadržaj vlage u osušenim produktima određen je termogravimetrijskom analizom.

Iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem kretalo se u rasponu od 40,19 do 59,57%. Uočen je značajan utjecaj variranih parametara na iskorištenje procesa: povećanje brzine dotoka uzorka rezultiralo je smanjenjem iskorištenja procesa, dok je povećanje kapaciteta aspiratora uzrokovalo veće iskorištenje procesa. Srednji promjer alginatnih mikročestica kretao se u rasponu od 2,80±0,04 μm do 3,14±0,17 μm. Navedenom metodom nije bilo moguće precizno odrediti veličinu čestica zbog adhezije manjih čestica na veće te zbog aglomeriranja čestica. Sadržaj vlage alginatnih mikročestica kretao se u rasponu od 9,75 do 11,51 %. Nije uočena ovisnost sadržaja vlage o promatranim parametrima. Relativno velik sadržaj vlage u mikročesticama objašnjen je adsorpcijom atmosferske vlage na alginatne mikročestice nakon procesa sušenja raspršivanjem.

Provedeno ispitivanje međuovisnosti procesnih parametara i svojstava suhog produkta može poslužiti u razvoju alginatnih terapijskih sustava pripravljenih sušenjem raspršivanjem.

SUMMARY

Spray-drying is a technological process that is widely used in the development of pharmaceuticals. By optimizing the process parameters, it is possible to obtain the powdered product of controlled particle properties. The procedure is largely applicable in the development of innovative drug delivery systems of the desired release profile of the drug. Frequent issues with drug formulation by use of drying processes are too high residual moisture content and the problem of moisture adsorption during storage, especially in the case of highly hygroscopic products.

The aim of this work was to prepare alginate microparticles by spray drying method and to investigate the influence of the feed rate and drying air flow rate (through aspirator setting) on the process yield, particle size and residual moisture content of the product. A full factorial experimental design with three levels of process parameters was used (sample flow rate of 2,12, 3,92 and 5,64 g/min, and aspirator setting of 25, 50 and 75% of full capacity). The sodium alginate solution (0,5%, *w/V*) was spray-dried at an inlet temperature of 140°C and a compressed air flow of 700 Nl/h using a bifluid nozzle device. Particle size was determined by microscopic image analysis. Moisture content in dried products was determined by thermogravimetric analysis. The yield of the spray-drying process ranged from 40.19 to 59.57%. Significant influence of the investigated parameters on the process yield was noted: increasing sample flow rate resulted in reduced process yield, while the increase of drying air flow rate caused a greater yield of the process. The mean diameter of alginate microparticles ranged from 2.80±0.04 μm to 3.14±0.17 μm. It was not possible to precisely determine the particle size using this method due to the adhesion of smaller particles to larger ones and due to the agglomeration of the particles. The moisture content of the alginate microparticles ranged from 9.75 to 11.51%. The relationship between the microparticle moisture content and the studied parameters was not observed. Relatively high moisture content in the spray-dried products was explained by adsorption of the atmospheric moisture on alginate microparticles after the spray-drying process. This study on relationship between the process parameters and the properties of the spray-dried product can serve as a starting point in the development of alginate based drug delivery systems prepared by spray-drying.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmaceutsku tehnologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

UTJECAJ BRZINE DOTOKA UZORKA I PROTOKA MEDIJA ZA SUŠENJE NA SVOJSTVA ALGINATNIH MIKROČESTICA PRIPRAVLJENIH SUŠENJEM RASPRŠIVANJEM

Laura Nižić

SAŽETAK

Sušenje raspršivanjem tehnološki je postupak koji nalazi široku primjenu u razvoju lijekova. Optimiranjem procesnih parametara moguće je pripraviti praškasti produkt kontroliranih svojstava čestica. Postupak je uvelike primjenjiv u razvoju inovativnih terapijskih sustava željenog profila oslobađanja uklopljenog lijeka. Česti problemi vezani uz oblikovanje lijekova postupcima sušenja su previsok sadržaj vlage zaostale nakon proizvodnog procesa te nakupljanje vlage prilikom skladištenja, pogotovo u slučaju izrazito higroskopnih produkata.
Cilj ovog rada bio je pripraviti alginatne mikročestice metodom sušenja raspršivanjem te ispitati utjecaj brzine dotoka uzorka i protoka medija za sušenje (kroz postavku rada aspiratora) na iskorištenje procesa, veličinu čestica i sadržaj ostatne vlage u produktu. Korišten je puni faktorijalni dizajn eksperimenta sa tri razine procesnih parametara (brzina dotoka uzorka od 2,12, 3,92 i 5,64 g/min te kapacitet rada aspiratora od 25, 50 i 75 %). Otopina natrijevog alginata (0,5 %, *m*/*V*) sušena je raspršivanjem pri ulaznoj temperaturi od 140°C i protoku komprimiranog zraka od 700 Nl/h korištenjem uređaja s bifluidom sapnicom. Veličina čestica određena je mikroskopskom analizom slike. Sadržaj vlage u osušenim produktima određen je termogravimetrijskom analizom. Iskorištenje procesa kretalo se u rasponu od 40,19 do 59,57%. Uočen je značajan utjecaj variranih parametara na iskorištenje procesa: povećanje brzine protoka uzorka rezultiralo je njegovim smanjenjem, dok je povećanje kapaciteta aspiratora uzrokovalo veće iskorištenje. Srednji promjer alginatnih mikročestica kretao se u rasponu od 2,80±0,04 μm do 3,14±0,17 μm. Navedenom metodom nije bilo moguće precizno odrediti veličinu čestica zbog adhezije manjih čestica na veće te zbog aglomeriranja čestica. Sadržaj vlage alginatnih mikročestica kretao se u rasponu od 9,75 do 11,51 %. Nije uočena ovisnost sadržaja vlage o promatranim parametrima. Relativno velik sadržaj vlage u mikročesticama objašnjen je adsorpcijom atmosferske vlage na alginatne mikročestice nakon procesa sušenja. Provedeno ispitivanje međuovisnosti procesnih parametara i svojstava suhog produkta može poslužiti u razvoju alginatnih terapijskih sustava pripravljenih sušenjem raspršivanjem.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 47 stranica, 14 grafičkih prikaza, 4 tablice i 59 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Sušenje raspršivanjem; Procesni parametri; Alginat; Sadržaj ostatne vlage; Iskorištenje procesa; Terapijski sustavi

Mentor: **Dr. sc. Anita Hafner**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Anita Hafner**, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Mario Jug, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Dubravka Vitali Čepo, *izvanredna profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta*

Rad prihvaćen: lipanj 2017.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmaceutical Technology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

INFLUENCE OF THE FEED RATE AND DRYING AIR FLOW RATE ON THE PROPERTIES OF SPRAY-DRIED ALGINATE MICROPARTICLES

Laura Nižić

SUMMARY

Spray-drying is a technological process that is widely used in the development of pharmaceuticals. By optimizing the process parameters, it is possible to obtain the powdered product of controlled particle properties. The procedure is largely applicable in the development of innovative drug delivery systems of the desired release profile of the drug. Frequent issues with drug formulation by use of drying processes are too high residual moisture content and the problem of moisture adsorption during storage, especially in the case of highly hygroscopic products.

The aim of this work was to prepare alginate microparticles by spray-drying method and to investigate the influence of the feed rate and drying air flow rate (through aspirator setting) on the process yield, particle size and residual moisture content of the product. A full factorial experimental design with three levels of process parameters was used (sample flow rate of 2.12, 3.92 and 5.64 g/min, and aspirator setting of 25, 50 and 75% of full capacity). The sodium alginate solution (0,5%, w/V) was spray-dried at an inlet temperature of 140°C and a compressed air flow of 700 Nl/h using a bifluid nozzle device. Particle size was determined by microscopic image analysis. Moisture content in dried products was determined by thermogravimetric analysis. The yield of the spray-drying process ranged from 40.19 to 59.57%. Significant influence of the investigated parameters on the process yield was noted: increasing sample flow rate resulted in reduced process yield, while the increase of drying air flow rate caused a greater yield of the process. The mean diameter of alginate microparticles ranged from 2.80±0.04 μm to 3.14±0.17 μm. It was not possible to precisely determine the particle size using this method due to the adhesion of smaller particles to larger ones and due to the agglomeration of the particles. The moisture content of the alginate microparticles ranged from 9.75 to 11.51%. The relationship between the microparticle moisture content and the studied parameters was not observed. Relatively high moisture content in the spray-dried products was explained by adsorption of the atmospheric moisture on alginate microparticles after the spray-drying process. This study on relationship between the process parameters and the properties of the spray-dried product can serve as a starting point in the development of alginate based drug delivery systems prepared by spray-drying.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 47 pages, 14 figures, 4 tables and 59 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Spray-drying; Process parameters; Alginate; Residual moisture; Process yield; Drug delivery systems

Mentor: **Anita Hafner**, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Anita Hafner**, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Mario Jug, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Dubravka Vitali Čepo, **Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: June 2017.